

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1978 - N° 389

**LE DIAGNOSTIC ANTENATAL
PAR L'ANALYSE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE.**

**Expérience Lyonnaise
à propos de 237 observations.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 20 Octobre 1978
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Marc VIDAL

Interne des Hôpitaux de Lyon

né le 28 Juillet 1946

à SAINT-DIDIER-EN-VELAY (Haute-Loire)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554220_0008

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1978 - N°

**LE DIAGNOSTIC ANTENATAL
PAR L'ANALYSE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE.**

**Expérience Lyonnaise
à propos de 237 observations.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 20 Octobre 1978
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Marc VIDAL

Interne des Hôpitaux de Lyon

né le 28 Juillet 1946

à SAINT-DIDIER-EN-VELAY (Haute-Loire)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON

- MEDICINE -

M. A. R. GRANGE-BLANCHARD

Thèse n° 10

LE DIAGNOSTIC AUTERATAL
PAR L'ANALYSE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE.

Exposition Lyonnaise
à propos de 237 observations.



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

en vue de son admission à l'École de Médecine
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Mme VIOLE

née le 10 Mars 1890

et le 20 Juin 1918

A SAINT-DIER-EN-VELAY (Haute-Loire)

— UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I —

Président de l'Université	M. le Professeur D. GERMAIN
Vice Président	M. le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice Président	M. B. ROUSSET
Troisième Vice Président	M. P. BRULA
Secrétaire Général	M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE :

Médecine :	GRANGE BLANCHE	M. le Docteur B. SALLE (MCA)
	ALEXIS CARREL	M. le Professeur R. MORNEX
	SUD-OUEST	M. le Professeur J. NORMAND
	LYON NORD	Directeur : M. le Docteur J.P. NEIDHARDT
		Directeur honoraire : M. le Professeur A. BERTOYE
Biologie Humaine		M. le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)
Techniques de Réadaptation		M. le Docteur A. MORGON (MCA)
Sciences Pharmaceutiques		M. le Professeur BIZOLLON
Sciences Odontologiques		M. le Docteur R. VINCENT
Institut régional d'éducation physique et sportive ..		Président du conseil d'UER : M. le Docteur J.J. COMTET (MCA)
		Directeur M. A. MILLON
Mathématiques		M. le Professeur P. PICARD
Physique		M. le Professeur J. DELMAU
Chimie et Biochimie		M. le Professeur J. HUET
Sciences de la Nature		M. le Professeur R. GINET
Sciences Physiologiques		Mlle le Professeur J.F. WORBE
Institut Universitaire et Technologie n°1		M. le Professeur A. VILLE
Institut Universitaire et Technologie n°2		M. J. GALLET (Directeur ENSAM)
Observatoire		M. M. MONNET (Astronome Adjoint)
Physique Nucléaire		M. le Professeur GUSAKOW
Mécanique		Mlle le Professeur G. COMPTE-BELLOT.



Examineurs de la thèse :

Président : Monsieur le Professeur M. DUMONT

Assesseurs : Monsieur le Professeur A. NOTTER
Monsieur le Professeur J.M. ROBERT
Monsieur le Professeur Agrégé J.M. THOULON
Monsieur le Professeur Agrégé P. GUIBAUD

A thing of beauty is a joy for ever.

Keats -

*L'effort qu'on fait pour être heureux
n'est jamais perdu.*

*Il y a plus de volonté qu'on croit
dans le bonheur.*

Alain -

A ma femme,

Nous avons débuté avec tous les vents contraires ; sa force de caractère, son courage, son optimisme ont toujours été à la base de notre réussite.

Qu'elle soit assurée de mon profond amour.

A mes enfants : Marie et Eric.

A mes belles-filles : Nathalie et Sandrine.

A mes parents,

Ils m'ont toujours accordé leur confiance même dans mes fantaisies les plus extravagantes. J'espère en avoir été digne ; ce travail leur est en grande partie dédié mais il ne peut être qu'une faible expression de tout l'amour et le respect que je leur porte.

A mes frères, soeurs, beaux-frères, belles-soeurs,

Notre solidarité a toujours été enviée ; leur présence aujourd'hui est indispensable à mon bonheur.

A mes grands-parents maternels,

Avec toute mon affection.

A la mémoire de mes grands-parents paternels,

A toute ma famille,

A ma belle-famille,

A tous mes AMIS,

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur M. DUMONT,

Nous apprécions l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de notre thèse.

C'est dans son service que nous avons choisi de débiter notre carrière de gynécologie-obstétrique en tant que C E S, puis c'est en qualité d'interne que nous avons tenu à y retourner.

L'accueil fort sympathique qu'il nous y a réservé lors de ces deux stages nous a séduit par son humanisme et son impartialité.

Nous sommes fier d'être son élève et espérons ne jamais oublier les précieux enseignements qu'il nous a prodigués tant sur la philosophie de la vie que sur l'art d'exercer la médecine.

Qu'il trouve ici le témoignage de la fidélité et de la sincérité de nos sentiments.

A NOS MAITRES ET JUGES :

Monsieur le professeur A. NOTTER,

C'est notre premier semestre d'internat que nous avons passé dans son service ; il a su vaincre notre appréhension par son enseignement, la confiance qu'il accorde à ses internes, la gentillesse de son réconfort.

Nous le remercions d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Qu'il trouve en ce travail, le témoignage de notre respectueux attachement.

Monsieur le professeur J.M. ROBERT,

Avant d'envisager ce sujet, la génétique nous paraissait une science bien hermétique. Il a su nous initier avec patience, nous encourager avec amitié, nous lui demandons de nous juger avec indulgence.

Nous avons admiré ses connaissances scientifiques autant que sa culture et nous n'oublierons pas que son équipe à toutes les qualités de son maître.

Monsieur le professeur agrégé J.M. THOULON,

Nous admirons son savoir, nous estimons sa rigueur impérative même si elle nous a coûté parfois des efforts.

Si ses qualités intellectuelles nous ont séduit par la clarté de son enseignement et l'originalité de ses idées, nous apprécions tout autant, sous son air parfois glacial, l'"amitié" et la disponibilité qu'il sait donner sans compter à tous ses élèves.

Nous le remercions de juger ce sujet qui lui est cher et espérons ne pas avoir déçu ses espérances.

Qu'il trouve ici, le témoignage de notre attachement.

Monsieur le professeur agrégé P. GUITAUD,

Il nous a accueilli avec beaucoup de gentillesse et beaucoup de clémence pour notre ignorance en sa matière.

La qualité et la quantité de ses connaissances à la disposition d'un sérieux, d'une probité, d'un désir de la précision, rares, nous ont rapidement attaché à lui, mais nous ont aussi plus d'une fois découragé.

Nous avons appris avec lui la valeur des mots qui ne doivent jamais être inutiles et du texte qui doit être concis, complet et précis.

Nous appréhendons son jugement qui sera juste et nous lui demandons d'être indulgent.

A NOS MAITRES dans les Hôpitaux, pendant notre Internat :

- Monsieur le Professeur Agrégé CHARVET
- Monsieur le Professeur A. NOTTER
- Monsieur le Professeur MARET
- Monsieur le Professeur M. DUMONT
- Monsieur le Professeur Agrégé J.M. THOULON
- Monsieur le Professeur DAUDET
- Monsieur le Docteur MOUSSELON
- Monsieur le Professeur P. MAGNIN
- Monsieur le Professeur Agrégé D. DARGENT
- Monsieur le Professeur V. ROCHET
- Monsieur le Professeur Agrégé A. BREMOND
- Monsieur le Professeur G. GUILLEMIN
- Monsieur le Professeur Agrégé Ph. BERARD

A TOUS CEUX sans l'aide desquels ce travail n'aurait pu être réalisé :

- Docteur Henri PLAUCHU,

Il nous a consacré beaucoup de son temps et de sa patience.

Nous remercions l'ami qu'il est devenu.

- Madame le Docteur S. GUIBAUD,

Nous avons retrouvé en elle les qualités exceptionnelles de son mari. Sans son appui, nous n'aurions pu réaliser cette thèse.

Qu'elle trouve ici le témoignage de notre reconnaissance et de nos sentiments respectueux.

- A Mademoiselle M. Th. ZABOT,

Son concours nous fut précieux dans une discipline que nous ignorions.

- A Monsieur Ph. MESSY,
Assistant de l'Université,
Ingénieur dans le service du professeur SITE

Nous le remercions d'avoir été le cerveau mathématique de ce travail.

- A Madame Jeanine BOUCHARLAT,

Elle nous a consacré beaucoup de son temps dans la recherche et l'établissement des dossiers.
Nous la remercions pour son efficacité.

PLAN

- 1 - INTRODUCTION
- 2 - INDICATIONS
 - 2 . 1 - Chromosomiques
 - 2 . 1 . 1 - Indications du diagnostic anténatal
 - 2 . 2 . 1 - Exposé de nos résultats
 - 2 . 2 - Age maternel élevé
 - 2 . 2 . 1 - Raisons du diagnostic anténatal
 - 2 . 2 . 2 - Résultats de notre expérience
 - 2 . 3 - Maladies géniques
 - 2 . 3 . 1 - Etude des maladies géniques
 - 2 . 3 . 2 - Nos résultats
 - 2 . 4 - Indications non classées
- 3 - AMNIOCENTESE PRECOCE
 - 3 . 1 - Echographie
 - 3 . 1 . 1 - Techniques
 - 3 . 1 . 2 - Résultats
 - 3 . 2 - Amniocentèse
 - 3 . 2 . 1 - Quand faire la ponction ?
 - 3 . 2 . 2 - Calcul de la hauteur utérine
 - 3 . 2 . 3 - Amniocentèse proprement dite
- 4 - DONNEES DE L'AMNIOCENTESE
 - 4 . 1 - Etude du surnageant
 - 4 . 1 . 1 - Ionogramme
 - 4 . 1 . 2 - Protéines totales, glucose, créatinine
 - 4 . 1 . 3 - Alpha foeto protéines
 - 4 . 1 . 3 . 1 - Généralités
 - 4 . 1 . 3 . 2 - Résultats

- 4 . 2 - Etude des cellules non cultivées
 - 4 . 2 . 1 - Test de Kleihauer
 - 4 . 2 . 2 - Sexe chromatinien
 - 4 . 2 . 3 - Y fluorescent
- 4 . 3 - Etude des cellules cultivées
 - 4 . 3 . 1 - Caractéristiques du liquide
 - 4 . 3 . 2 - Culture cellulaire
 - 4 . 3 . 2 . 1 - Technique
 - 4 . 3 . 2 . 2 - Incidents
 - 4 . 3 . 2 . 3 - Résultats
 - 4 . 3 . 3 - Caryotype
 - 4 . 3 . 3 . 1 - Technique
 - 4 . 3 . 3 . 2 - Données du caryotype dans notre travail
- 5 - INCIDENTS - ACCIDENTS
 - 5 . 1 - Incidents
 - 5 . 1 . 1 - Relatifs à la ponction
 - 5 . 1 . 2 - Du diagnostic prénatal
 - 5 . 2 - Accidents
 - 5 . 2 . 1 - Fausses couches
 - 5 . 2 . 2 - Hémorragie transplacentaire
 - 5 . 2 . 3 - Les autres accidents
- 6 - CONSEQUENCES DU DIAGNOSTIC ANTENATAL
 - 6 . 1 - Interruption de grossesse
 - 6 . 2 - Evolution de la grossesse sur enfant "atteint"
 - 6 . 3 - Evolution de la grossesse sur enfant supposé sain
 - 6 . 3 . 1 - Césariennes
 - 6 . 3 . 2 - Grossesses pathologiques
 - 6 . 3 . 3 - Poids des enfants à la naissance
- 7 - COUT DU DIAGNOSTIC ANTENATAL
- 8 - PERSPECTIVES D'AVENIR
- 9 - ETHIQUE DU DIAGNOSTIC ANTENATAL

LES CONCLUSIONS

1

INTRODUCTION

Le diagnostic anténatal est la possibilité de mettre en évidence précocement (avant 20 semaines d'aménorrhée) des malformations ou des maladies du fœtus, d'origine génétique, par l'étude du liquide amniotique.

Les premiers cas ont été pratiqués dès 1969, 1970 aux Etats-Unis ; rapidement une équipe médicale lyonnaise s'est intéressée à la technique et ses premières publications datent de 1972 (106) (55) (163) (101) (163).

L'amniocentèse précoce s'est alors largement répandue autorisant certains auteurs à publier dès 1975 - 1976 les résultats de grandes séries (46) (154).

L'impact de ces travaux s'est fait sur le corps médical mais aussi et surtout sur les couples ; la presse a largement diffusé l'information, sans nuance, laissant apparaître le diagnostic prénatal comme une méthode réelle de dépistage dont pourrait bénéficier toute femme enceinte. Si il est séduisant par sa définition, il ne peut être un geste de routine ni et surtout une prescription médicale banale ; il requiert de façon absolue des conditions à ne pas transgresser :

- ses limites d'indication concernent la maladie ou la malformation imposant :
 - . qu'elle ait un déterminisme au moins partiellement génétique.
 - . qu'elle ait une expression biologique
 - . que cette expression biologique soit identifiable dans le liquide amniotique.
- ses limites de réponse se bornent à l'anomalie recherchée et le diagnostic anténatal ne doit pas être considéré comme une "assurance tout risque".
- ses limites d'organisation impliquent qu'il soit intégré dans une équipe médicale unie, solidaire, travaillant dans un contexte clinique et biologique adapté qui ne peut être autre qu'hospitalo-universitaire.

La chaîne médicale est composée d'un généticien ou d'un pédo-généticien, d'un obstétricien, de biologistes et d'un cytogénéticien ; chacun des maillons ne peut accomplir son travail que si il reste à sa place et en communication permanente avec les autres.
- ses limites d'ordre éthique sont celles de la conséquence d'un diagnostic anténatal positif : l'interruption de grossesse.

Ce travail concerne l'étude de 237 diagnostics anténataux pratiqués à Lyon sur une durée de trois ans, portant du 1er janvier 1975 au 1er janvier 1978.

Sur ces 237 cas, la grande majorité soit 193 sont des observations de la clinique obstétricale de la Croix-Rousse (Professeur M. DUMONT et professeur Agrégé J.M. THOULON) en relation avec le service de génétique de l'Hôtel-Dieu (professeur J.M. ROBERT) ou la consultation génétique de l'hôpital Debrousse (professeur Agrégé P. GUIBAUD). Les 44 cas restants ont été traités soit par la clinique obstétricale de Grange-Blanche (professeur P. MAGNIN), soit par le service d'obstétrique de l'hôpital de Sainte-Foys-lès-Lyon (Docteur H. GABRIEL) soit enfin par quelques accoucheurs exerçant dans le privé.

La répartition annuelle est de :

- 33 **cas** en 1975
- 81 cas en 1976
- 123 cas en 1977.

2

INDICATIONS

Nous traiterons ce chapitre en envisageant 4 groupes d'indication, chacun étant exposé en 2 temps :

- dans un premier temps nous exposerons : les généralités, les différents cas, le mode de diagnostic, etc...

- dans un deuxième temps nous exposerons nos propres résultats.

Notre classification se fait en 4 groupes :

- . Indications chromosomiques

- . Indications géniques avec 3 sous-groupes :

- les maladies à transmission autosomique récessive
- les maladies à transmissions liées à l'X.
- les maladies géniques multifactorielles dans lesquelles entrent les malformations du tube neural...

- . Indications liées à l'AGE MATERNEL élevé

- . Indications **non classées**.

2.1. - LES INDICATIONS CHROMOSOMIQUES

Il s'agit d'anomalies portant sur le nombre, la structure ou la répartition des chromosomes.

2.1.1 - INDICATIONS DU DIAGNOSTIC ANTENATAL ET ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES

2.1.1.1 - QUELS SONT LES "POINTS D'APPELS" QUI AMENENT UN COUPLE A L'ENQUETE GENETIQUE ?

Nous les distinguerons en 4 types :

2.1.1.1.1 - NAISSANCE D'UN ENFANT PRESENTANT UNE ABERRATION CHROMOSOMIQUE DANS "LE COUPLE"

Il s'agit essentiellement :

- . des Trisomies 21 dont la fréquence générale est de 1 sur 600 à 700 naissances (54) et que nous connaissons malheureusement trop bien phénotypiquement.
- . des Trisomies 13 ou Syndrome de PATAU (144) (161).
Elle est décrite en 1960 par Patau, sa fréquence est de 1 sur 4 à 10 000 naissances (54) :
 - crâne trop petit, front fuyant, aplasie du vertex.
 - syndrome dysmorphique de la face dominé par hypoplasie du bourgeon facial médian entraînant une "gueule de loup" ou une "cébocéphalie".
 - anomalies oculaires constantes : de la microphthalmie à l'anophthalmie.
 - hexadactylie fréquente.
 - les malformations viscérales sont constantes et léthales.
 - malformation cérébrale : surtout arhinencéphalie très caractéristique.
- . des Trisomies 18 ou "Syndrome d'Edwards" décrites en 1960 - ont une fréquence de 1 sur 8 000 naissances (marqué par un ensemble dysmorphique caractéristique (161) (144) (143) :
 - crâne petit et étroit. Microrétroprognathisme.
 - position des doigts pathognomonique : l'index trop long recouvre le médus et l'auriculaire recouvre l'annulaire.

- dermatoglyphes présentant des arches sur tous les doigts.
- les malformations viscérales, graves et nombreuses, entraînent la mort en quelques semaines ou mois.

2.1.1.1.2 - ENQUETE FAMILIALE "ELARGIE" A PARTIR D'UNE ABERRATION CHROMOSOMIQUE APPARUE DANS LA FAMILLE

2.1.1.1.3 - BILAN DE FAUSSES COUCHES SPONTANÉES (FCS) A REPETITION, LE PLUS SOUVENT CHEZ UNE NULLIPARE - (LE NOMBRE DE FCS EST A CONSIDERER (Cf. NOS RESULTATS)).

2.1.1.1.4 - BILAN D'INFERTILITE

2.1.1.2 - ENQUETE GENETIQUE ET SELECTION DES COUPLES CANDIDATS AU DIAGNOSTIC ANTENATAL

Lors du conseil génétique et de l'examen chromosomique indispensable du couple, 4 situations se présentent selon les résultats :

2.1.1.2.1 - INDICATION DE NECESSITE

Le caryotype révèle chez un des membres du couple une anomalie chromosomique "EQUILIBREE" qui peut entraîner une aberration chromosomique dans la progéniture.

Il s'agit dans la majorité des cas d'une TRANSLOCATION EQUILIBREE qui peut être de 3 types :

2.1.1.2.1.1 - "Complètes" distinguées en 2 sous-types :

2.1.1.2.1.1.1 - Translocation ROBERTSONIENNE

qui correspond à l'attachement de 2 chromosomes entiers par leurs "bras courts" - (nous rappelons que chaque chromosome a 1 bras long et un bras court dont la taille permet de les classer).

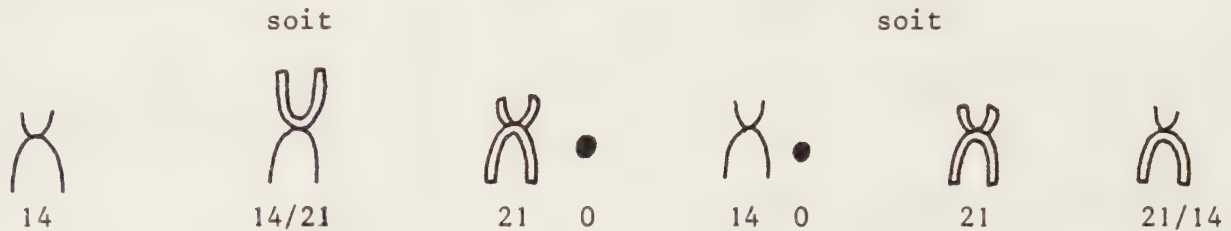
Dans ce cas l'individu a une formule chromosomique apparente de 43 autosomes et 2 gonosomes ; en fait un des autosomes est l'union anormale de 2 chromosomes normaux par leurs bras courts.

1er exemple : 45 XY t (14 - 21)

Un chromosome de la paire des 14 et un chromosome de la paire des 21 sont attachés.



De cette liaison, 2 situations sont possibles dans le choix des chromosomes lors de la méiose,



Le 21 migre avec le 14

Le 14 migre avec le 21

Si ces gamètes rencontrent celle d'un sujet sain, 8 solutions de zygote sont à envisager (voir tableau n° 1).

En résumant le tableau nous obtenons :

- 25 % d'enfants normaux.
- 25 % de sujets sains transloqués équilibrés.
- 25 % de fausses couches : Monosomies
- 25 % de Trisomies dont :
 - . 1 Trisomie 21
 - . 1 Trisomie 14 (léthale).

Vu qu'il y a 2 fausses couches et une Trisomie 14 létale (il existe dans la littérature 2 cas de T 14 à terme (54)), il n'y a plus "effectivement" qu'un risque sur cinq d'avoir un enfant atteint.

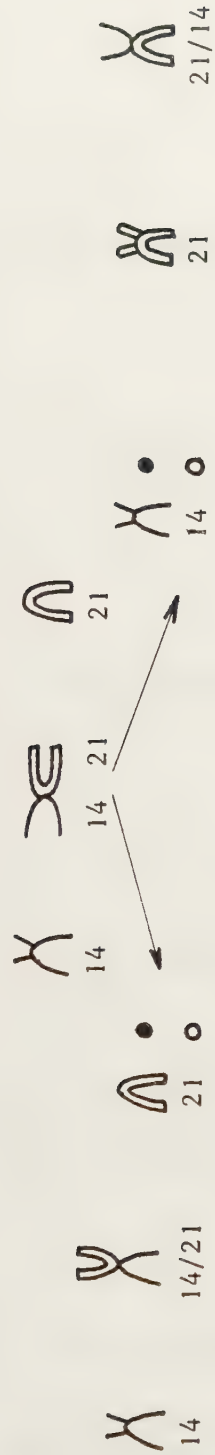
2ème exemple : 45 XY t (21 - 21)

Lorsque la translocation Robertsonienne concerne les deux chromosomes de la même paire "le pronostic est tout autre".

En effet les gamètes de ce sujet comportent soit 2 chromosomes 21, soit aucun. L'enfant attendu sera donc :

- soit trisomique 21 malformé
- soit monosomique 21, non viable entraînant une fausse couche.

Aucun enfant normal ne peut être espéré, il n'y a donc pas lieu d'envisager pour ce couple, ni grossesse ni a fortiori de diagnostic anténatal. On peut même évoquer ici le problème de la stérilisation de l'individu.



gamètes pos- sibles du su- jet transloqué										
gamètes du sujet sain										
Le Z Y G O T E	NORMAL	MONOSOMIE 21 Non viable FC	TRISOMIE 21	Transloqué Equilibré 21/14 SAIN	NORMAL	TRISOMIE 14 Léthale	MONOSOMIE 14 Non viable FC	Transloque Equilibré SAIN		

Tableau n° 1 - Exemple de translocation complète type Robertsonienne
45 XY t (14 - 21).

2.1.1.2.1.1.2 - Translocations dites en "TANDEM"

Elles sont beaucoup plus rares et correspondent à l'attachement de 2 chromosomes entiers par leurs "bras longs".



Les problèmes posés sont du même ordre que les précédents.

2.1.1.2.1.2 - Les translocations Partielles

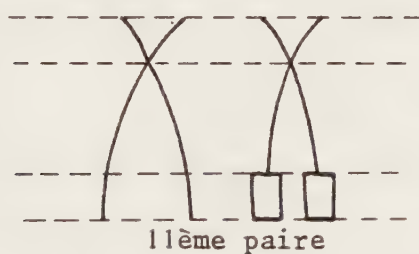
Elles sont la plupart du temps réciproques, c'est-à-dire qu'il y a "cas-sure" et "échange" de morceaux chromosomiques entre 2 chromosomes d'une paire différente. Deux éventualités :

- soit les morceaux échangés ont la même longueur et l'anomalie est plus difficile à déceler au caryotype ;
- soit les morceaux sont d'inégale longueur et plus faciles à déceler.

Cependant les techniques actuelles de caryotype et spécialement celle du "Banding" (Cf. caryotype) ont révolutionné sa précision dans ces anomalies.

Exemple : 46 XX (t 11 q - 18 q)

formule à 46 chromosomes avec translocation partielle 11 - 18 portant sur les bras longs

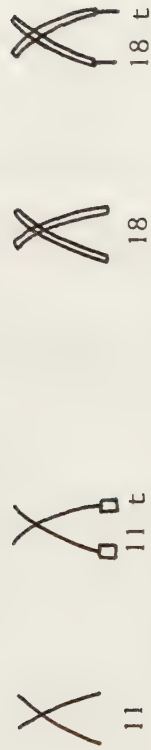


chez cet individu, lors de la méiose, il y a 4 possibilités de migration ; si on envisage chacune d'elles avec les gamètes d'un sujet sain, on obtiendra 4 sortes de zygote (tableau n° 2).

L'association du gamète normal d'un individu avec une de ces 4 possibilités de gamète anormal va engendrer :

- 25 % d'enfants normaux.
- 25 % d'enfants transloqués partiels équilibrés à phénotype normal.
- 25 % d'enfants anormaux.:
 - . 1 enfant : trisomie partielle 18
monosomie partielle 11
 - . 1 enfant : trisomie partielle 11
monosomie partielle 18

Ces enfants seront viables ou non viables et si viables, plus ou



gamètes possibles du sujet transloqué				
gamètes du sujet sain				
Le Z Y G O T E				
	ENFANT NORMAL	TRISOMIE partielle 11 MONOSOMIE partielle 18	TRISOMIE partielle 18 MONOSOMIE partielle 11	TRANSLOQUE PARTIEL EQUILIBRE

Tableau n° 2 - Exemple de translocation partielle 11 - 18.

moins malformés selon l'importance quantitative des fragments échangés.

2.1.1.2.1.3 - Un peu particulière sont les translocations : Autosome avec le gonosome X.

Elles sont plus rares, perturbent de manière régulière le mécanisme de différenciation sexuelle et donc la fécondité ultérieure.

2.1.1.2.2. - INDICATIONS DE SECURITE

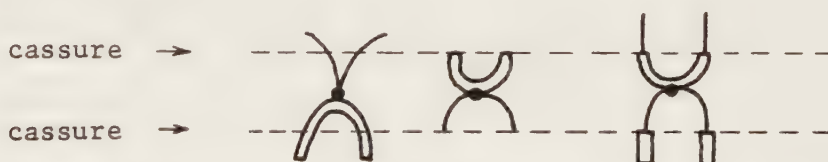
Au cours de l'enquête génétique, le caryotype révèle chez un des parents la présence d'une anomalie chromosomique dont le retentissement sur la gamétogenèse est "mal connu". Ce dernier correspond à ce qu'on appelle en langage de génétique un "EFFET INTER-CHROMOSOMIQUE". Cet effet reconnu mais mal expliqué, induit par l'existence d'une paire de chromosome porteur d'une anomalie, va faciliter une mauvaise répartition de chromosome d'une autre paire, normale par ailleurs, lors de la gamétogenèse (nous constaterons quelques effets interchromosomiques dans l'exposé de nos résultats).

Parmi ces anomalies inductrices nous citerons :

2.1.1.2.2.1 - L'inversion

Elle peut être péri- ou paracentrique et correspond à la rotation d'un fragment de chromosome de 180° sur lui-même.

- . Si ce fragment est à cheval sur le centromère c'est une "inversion péricentrique".

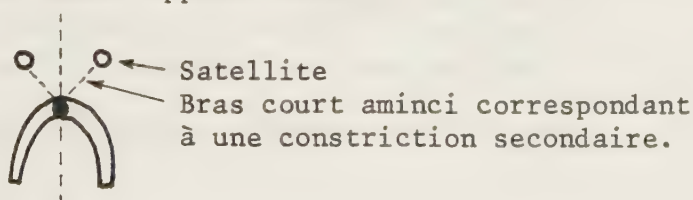


L'inversion péricentrique pourrait être classée dans les indications de nécessité car elle fait courir un risque élevé d'environ 20 % par "Aneusomie de recombinaison". La technique de caryotype classique est incapable de la diagnostiquer ; elle la prendra pour une délétion. Seule la technique de Banding pourra individualiser l'aneusomie.

L'inversion paracentrique : elle se fait en dehors du "centromère".

2.1.1.2.2.2 - Les Satellites supplémentaires

Certains chromosomes (*ex* : 13 - 14 - 15 - 22) ont à l'extrémité de leurs bras courts, amincis, un renflement appelé "Satellite".



Il arrive parfois que ces satellites soient doubles symétriquement.

Cette "variante" chromosomique chez un sujet normal pourrait modifier le bon déroulement de la méiose.

2.1.1.2.2.3 - L'anomalie de longueur du chromosome Y.

Ce chromosome comporte à l'extrémité de ses bras longs une "Hétérochromatime" dont la particularité est d'être très colorée. Ce segment inactif dont le rôle est inconnu voit sa taille varier considérablement d'une race et d'un individu à l'autre. Son caractère excessif pourrait être incriminé indirectement dans certaines malformations.

Dans ces trois situations, il peut être préférable de pratiquer un diagnostic prénatal surtout si un enfant malformé était déjà né dans un tel couple. Les méfaits accidentels d'un effet interchromosomique ne pouvant être dépistés que par le caryotype du fœtus.

2.1.1.2.3. - CONTRINDICATIONS

Deux situations précises doivent faire refuser la ponction après conseil génétique :

- . Le couple consulte à la suite de l'apparition ou de la présence d'une aberration chromosomique chez un membre d'une de leur famille.
- . Le couple consulte pour un bilan de fausses couches spontanées à répétition.

Dans ces 2 cas, si les caryotypes des postulants sont normaux et si la femme du couple n'entre pas dans le cas d'indication pour âge maternel élevé, il y a "contrindication" à un diagnostic anténatal.

2.1.1.2.4 - INDICATIONS DE SECURISATION

Ce sont elles les plus difficiles à cerner et elles nécessitent un long entretien en consultation de génétique.

Ces cas plus que les autres imposent un contact avec le généticien, qui seul pourra fournir les arguments définitivement rassurants 9 fois sur 10. On rencontre cette situation lorsque le couple :

- . a déjà un enfant trisomique et veut la GARANTIE qu'un deuxième enfant DESIRE sera NORMAL alors même qu'il n'y a ni caryotype anormal ni âge maternel élevé.
A l'extrême il refuse une deuxième grossesse si la garantie ne lui est pas assurée par une amniocentèse.
- . appartient au cadre des éducateurs spécialisés et vit de trop près

le problème de l'arriération mentale et dans l'anxiété refuse de courir le risque minime qui le hante.

- . a dans sa fratrie ou dans sa famille un malformé et le conjoint par malinformation craint la tare héréditaire.

C'est dans ces indications de sécurisation acceptées par le généticien, que le point de vue de l'obstétricien primera. En effet il s'agit d'une indication limite et si l'obstétricien prévoit un risque à l'amniocentèse supérieur au risque génétique, il doit refuser la ponction.

2.1.2 - EXPOSE DE NOS RESULTATS

Nous avons sur nos 237 observations 83 cas d'indications chromosomiques, dont :

13	en	75
29	en	76
41	en	77

Ils ont été répartis en 8 groupes : tableau n° 3.

2.1.2.1. - ANTECEDENTS DE TRISOMIE 21 DANS LA FRATRIE

Le diagnostic anténatal a concerné 47 fois des couples ayant eu un enfant trisomique 21 (T 21).

Sur ces 47 on notait :

- 46 trisomies 21 libres (c'est-à-dire 3 chromosomes 21 mais sans translocation, donc accidentel.
- 1 trisomie 21 avec translocation 21/21.

Le caryotype systématique des parents pratiqué avant amniocentèse a découvert sur ces 47 cas :

- . 1 translocation du père 21/21 qui explique de façon inévitable le seul trisomique 21 transloqué et qui pose un grave problème psychologique au couple, face à une éventuelle stérilisation du père ; en effet lors de la gamétogenèse il peut donner :
 - soit son chromosome 21 transloqué sur l'autre 21 n'engendrant que des trisomiques.
 - soit son absence de chromosome 21 engendrant des monosomiques 21, non viables (fausse couche).

Associée ou non à la stérilisation, le couple devra être informé sur l'insémination artificielle.

- . 1 translocation maternelle 13-14 équilibrée.

Nombre de CAS	8 3 I N D I C A T I O N S C H R O M O S O M I Q U E S						
	47	5	2	7	15	5	2
TYPE de L'INDICATION CHROMOSOMIQUE	TRISOMIE 21 dans la fratrie	TRISOMIE 21 + Age ma- ternel ou omphalocèle	TRISOMIE 18	TRISOMIE 21 dans la famille	Bilan de FCS à répétition	Enquête dans une famille porteuse d'une transloca- tion	1 TRIPLOIDIE + 1 Syndrome de BONNEVIE ULRICH
NOMBRE D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DECOUVERTES chez les PARENTS	4 transloca- tions 1 hétéro- chromatine 1 mosaïque 46 XY - 47 XXY				13 transloca- tions équilibrées 1 double satellite du chromosome 22		

Tableau n° 3 - Types et résultats de nos indications chromosomiques.

- . 1 translocation partielle équilibrée 18-4 de la mère.
- . 1 caryotype paternel en mosaïque avec des cellules 46 XY et une cellule sur 10 47 XXY (KLINE FELTER).
- . 1 translocation 2-21 du père.
- . 1 hétérochromatine 13.

Ainsi 6 fois sur 47, le caryotype systématique des parents a mis en évidence une anomalie qui 5 fois sur les 6 (T 21/21 excepté) donnent un bon exemple de l'"EFFET INTERCHROMOSOMIQUE". Des anomalies de la répartition des chromosomes non exprimées chez le porteur ont induit une mauvaise ségrégation des 2 chromosomes 21 lors de la méiose.

2.1.2.2 - ANTECEDENTS DE T 21 DANS LA FRATRIE ASSOCIES A UN AGE MATERNEL ELEVE OU AUTRES

Dans 5 cas l'indication était double

- 1 T 21 + Age maternel : 37 ans
- 1 T 21 + Age maternel : 38 ans
- 1 T 21 + Age maternel : 39 ans
- 1 T 21 + Age maternel : 40 ans
-
- 1 T 21 + 1 enfant décédé d'omphalocèle
(recherche de l'alphafoetoprotéine).

2.1.2.3 - ANTECEDENTS DE TRISOMIE 18 DANS LA FRATRIE.

Dans les deux cas de T 18, les enfants étaient décédés (cf. syndrome d'Edwards) et les mères avaient déjà un enfant vivant normal. Les caryotypes des parents étaient normaux. A ce sujet on peut rappeler un cas de la littérature d'un couple qui eut 2 enfants T 18 de suite ; leurs caryotypes sur les lymphocytes étaient normaux, alors que ils étaient en mosaïque sur les fibroblastes.

2.1.2.4 - ANTECEDENTS DE TRISOMIE 21 FAMILIALE.

Nous avons 7 cas de demande acceptée pour T 21 chez un frère, soeur ou collatéraux d'un des membres du couple. Sur ces 7 cas :

- 3 couples n'avaient pas d'enfant et ont été acceptés à l'amniocentèse alors que les caryotypes étaient normaux. Indication de sécurisation "abusive".
- 4 couples avaient déjà 1 ou 2 enfants vivants normaux : ABUSIF.

2.1.2.5 - INDICATION POUR DECOUVERTE D'UNE ABERRATION CHROMOSOMIQUE CHEZ UN DES MEMBRES DU COUPLE APRES BILAN DE FAUSSES COUCHES SPONTANÉES A REPETITION (10) (157) (13)

2.1.2.5.1 -

Nous avons 15 cas de FCS à répétition ayant entraîné un caryotype systématique des parents et ayant donné lieu à une amniocentèse.

Sur les 15 cas :

- 1 fois les caryotypes des parents étaient normaux ; la femme avait eu 2 enfants vivants normaux, 1 enfant mort-né de cause inconnue et 5 FCS. C'est une indication "élargie" de sécurisation.

- 14 fois une anomalie a été découverte dont :

. 13 translocations équilibrées

6 mères et 8 pères	{	2 (t - 3 - 1)
		1 (t - 7 - 8)
		2 (t 9 - 19)
		1 (t 11 - 18)
		1 (t 2 - 21)
		1 (t 3 - 4)
		1 (t 13 - 15)
		1 (t 8 - 15)
		1 (t 19 - 22)
		1 (t 2 - 5)
		1 (t 13 - 14)

. 1 double satellite sur le bras court du chromosome 22 du père.

La relation entre anomalie chromosomique et FCS à répétition est évidente.

2.1.2.5.2 -

En étudiant les différents cas nous avons noté que :

- sur les 15 cas : 3 avec des FCS mais avaient déjà 1 ou 2 enfants vivants. Il y avait donc 12 nullipares sur 15.
- le nombre de FCS varie de 1 à 6.

Nombre de FCS	Nombre de cas
1	1
2	3
3	6
4	1
5	1
6	3

Ces résultats très probants posent le problème du nombre de FCS avant d'envisager un caryotype chez les parents. 11 fois sur 15 il a été demandé après 3 FCS.

2.1.2.6 - INDICATION APRES ENQUETE DANS UNE FAMILLE PORTEUSE D'UNE TRANSLOCATION EQUILIBREE.

Dans 5 cas les couples sont venus au conseil génétique parce qu'une translocation avait été découverte chez un des membres de leur famille à la suite :

- de FCS répétées.
- de bilan de stérilité.
- de naissance d'un enfant transloqué "non équilibré".
- d'un diagnostic anténatal pour une autre indication que chromosomique.

Ces 5 couples ont fait l'objet d'un caryotype et ont été reconnus porteurs de la translocation, entrant donc dans les hauts risques et nécessitant une amniocentèse. Sur les 5 ponctions, un caryotype foetal montrait une translocation non équilibrée et a donné lieu à une interruption de grossesse.

2.1.2.7 - UNE INDICATION POUR TRIPLOIDIE.

Il s'agissait d'une femme de 30 ans qui avait fait une FCS précoce avec aspect molaire des débris d'expulsion. Un envoi est fait au laboratoire d'anatomopathologie qui répond : avortement chromosomique lié à une triploïdie. Il faut signaler que les placentas d'avortements des trisomies 13 et des triploïdies ont un aspect pseudo-molaire.

Devant ce cas, la conduite à tenir aurait dû être : caryotypes des parents et si normaux, contrindiquer le diagnostic prénatal.

2.1.2.8 - UNE INDICATION POUR SYNDROME DE BONNEVIE-ULRICH.

Il s'agit d'un couple ayant eu un premier enfant, décédé à dix minutes de vie, polymalformé (hydrocéphalie, ptérigium coli, oedème des extrémités, hernie diaphragmatique).

Une enquête génétique rapporte qu'un frère du père était lui aussi décédé à la naissance dans un tableau de polymalformation évoquant le Bonnevie - Ulrich.

En fait le diagnostic entre ce syndrome et celui de TURNER n'est pas évident, et dans notre observation :

- le caryotype de l'enfant n'a pas été pratiqué.
- les caryotypes des parents étaient normaux.

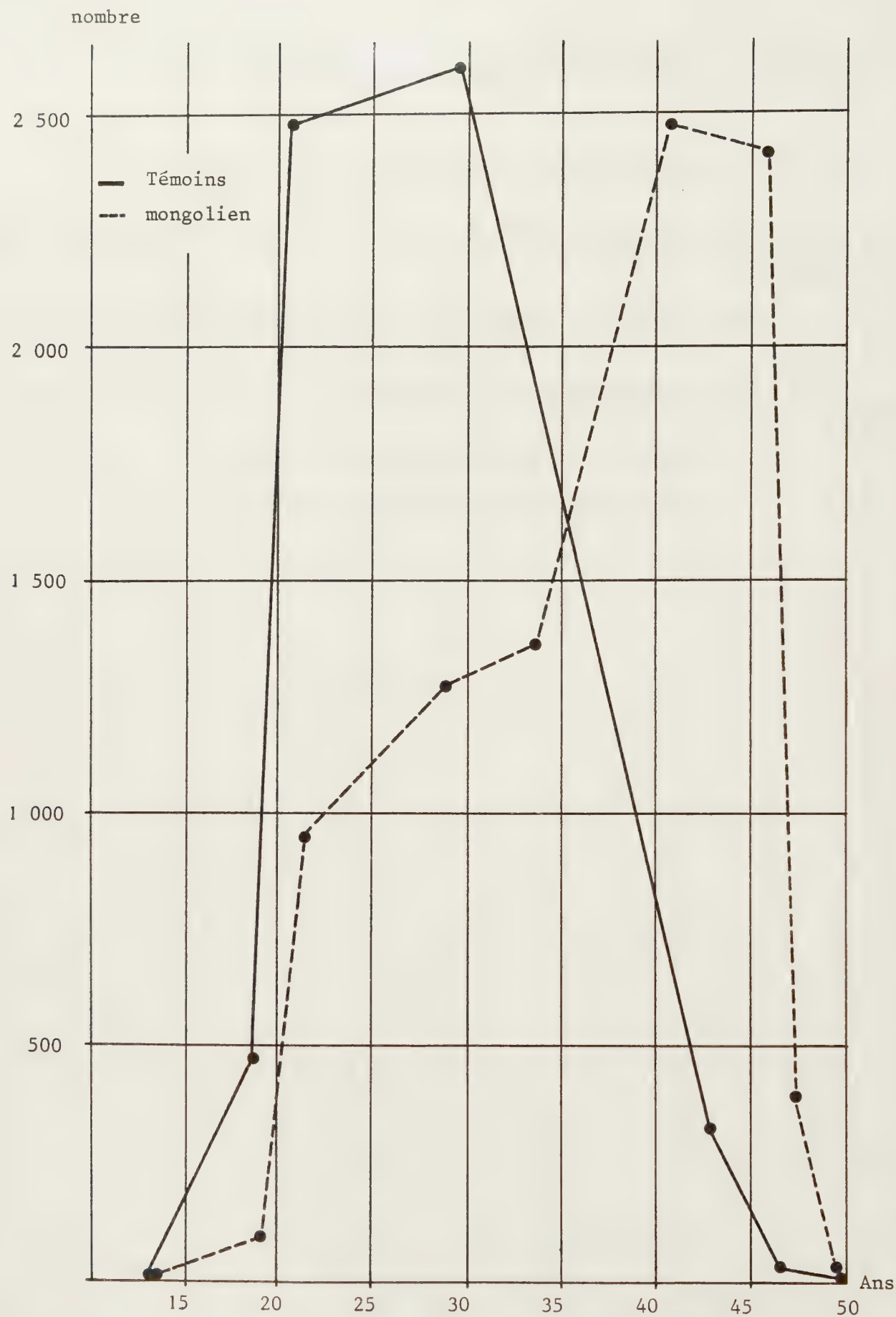


Diagramme n° 1 - Distribution de l'âge des mères pour 9 441 enfants mongoliens et autant de témoins - d'après PENROSE et SMITH 1966.

2.2 - INDICATIONS POUR AGE MATERNEL ELEVE

2.2.1 - RAISONS DU DIAGNOSTIC ANTENATAL POUR AGE MATERNEL ELEVE

Ces indications pourraient être classées dans les chromosomiques car elles leur appartiennent, mais leur nombre dominant en fait une véritable entité.

Nous ne nous étendrons pas sur les relations cause à effet entre âge maternel et anomalie chromosomique, et nous nous limiterons seulement à exposer plusieurs diagrammes et tableaux très explicites :

- certains montrant la prévalence de la trisomie 21 en fonction du nombre de naissances et de l'âge maternel.
- d'autres montrant l'incidence de la trisomie 21 en fonction de l'âge maternel.

MIKKELSEN (109) rapportant un diagramme publié en 1966 par PENROSE et SMITH (134), note que la trisomie 21 domine largement dans les tranches d'âge supérieures à 35 ans proportionnellement au nombre de naissances qui est faible (Diagramme n° 1). Si la courbe s'élève rapidement entre 20 et 25 ans en ce qui concerne la trisomie 21, c'est dans ce cas aussi, proportionnellement au grand nombre de naissances dans ces tranches d'âge.

MIKKELSEN (109) et ERICKSON (41) l'un sur un graphique, (diagramme n° 2), l'autre dans un tableau (n° 4), donnent l'incidence de l'âge maternel sur le mongolisme pour 1 000 naissances.

AGE	< 20	20 - 24	25 - 29	30 - 34	35 - 39	40 - 44	45 >
INCIDENCE	0,43	0,62	0,83	1,15	3,5	9,9	22

Tableau n° 4 - Incidence de l'âge maternel sur le mongolisme
(pour 1 000 naissances) d'après Mikkelsen.

Sur la courbe du diagramme d'Erickson, il faut noter curieusement la forte proportion de mongolisme chez les mères très jeunes. On pourrait être surpris par les chiffres de Mikkelsen dans les mêmes tranches d'âge ; en fait l'interprétation dans le tableau de Mikkelsen, de l'incidence de 0,43 chez les mères de moins de 20 ans, est sans doute un chiffre moyen entre les rares grossesses avant 16 ans mais à incidence élevée et le plus grand nombre de grossesses entre 16 et 20 ans à incidence 0,20 pour Erickson.

FERGUSON - SMITH et coll. (43) en 1976 faisaient une synthèse comparative entre 4 auteurs sur les indications d'âge maternel et le pourcentage d'anomalies

Down syndrome, paternal age, maternal age and birth order

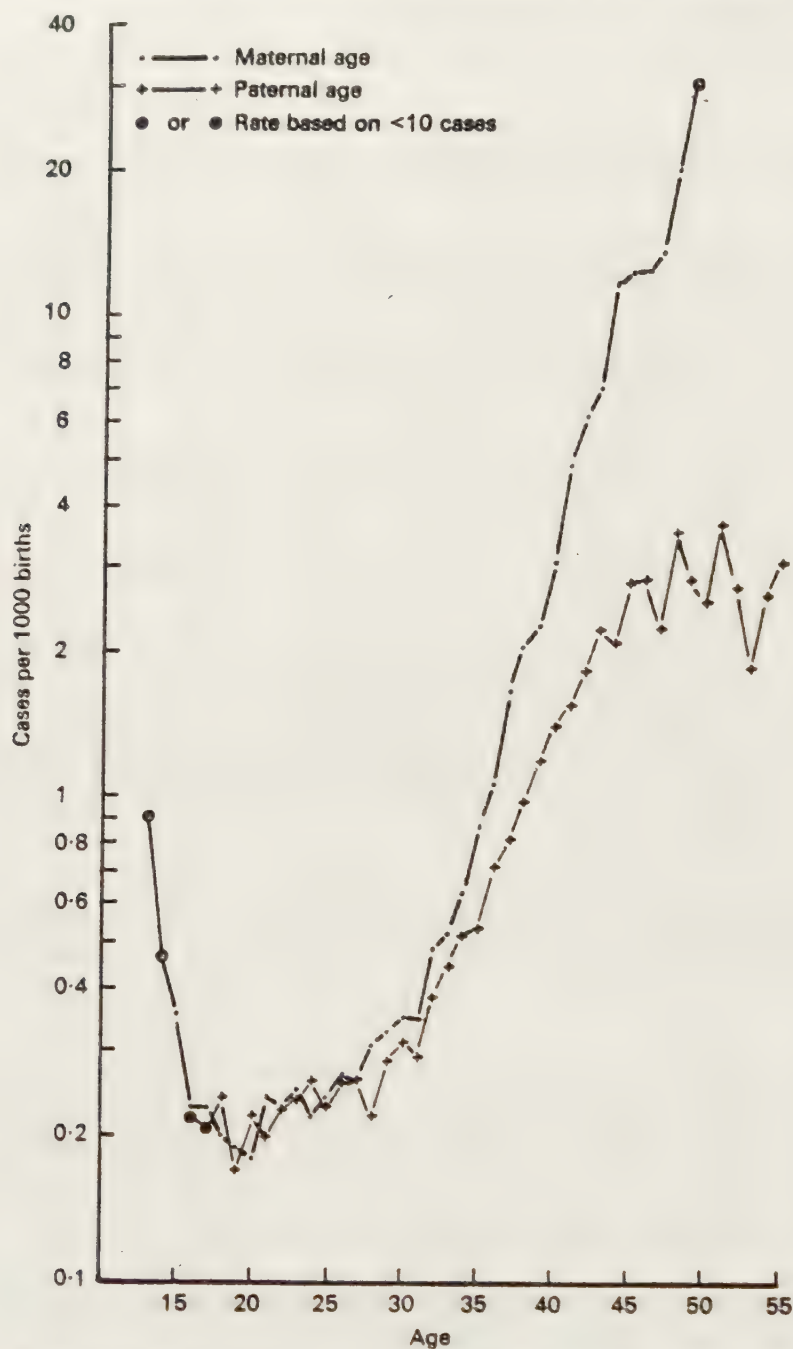


Fig. 1. Down syndrome rates, by parental age, NIS surveillance areas 1961-6.

Diagramme n° 2 - d'après ERICKSON.

chromosomiques trouvées (tableau n° 5.

I N D I C A T I O N	West of Scotland		U S A cumulative		EUROPE cumulative		West Germany	
	No	% Abn	No	% Abn	No	% Abn	No	% Abn
Mat. Age 35 - 39	105	1,0	418	1,4	410	1,2	332	1,2
Mat. Age 40 and over	147	5,4	481	2,5	883	4,6	328	5,2
Références	Ferguson Smith 1976		Milunsky 1975		GALJAARD 1975		B.R.D. Study 1975	

Tableau n° 5 - Synthèse comparative de 4 auteurs sur les indications d'âge maternel et le pourcentage d'anomalies chromosomiques trouvées.

Il s'agit de séries très importantes surtout pour l'Europe avec l'étude de GALJAARD qui présente 410 âges maternels entre 35 et 39 ans et 883 de 40 ans et plus.

Les chiffres d'anomalies chromosomiques suivant les tranches d'âge confirment ceux de Mikkelsen et Erickson et font la preuve de l'intérêt du diagnostic anténatal pour les âges maternels supérieurs à 39 ans mais surtout après 40 ans.

Le risque de trisomie et autres d'après les auteurs se situe :

- entre 35 et 39 ans : de 1 à 1,4 %.
- à 40 ans et plus : de 2,5 à 5,4 %.

Nous résumerons la bibliographie par un tableau publié par LINDSJO (95) sur l'âge maternel et son incidence sur le mongolisme et le nombre de naissances (tableau n° 6).

Le nombre de trisomies en valeur absolue est le plus important dans les tranches d'âge 25 - 29 ans, période où le nombre de naissances est le plus élevé, ce qui donne une incidence de 0,09 % de mongolisme soit 1 pour 1 000 naissances.

Entre 40 et 44 ans le nombre de naissances est faible 1,5 %, mais l'incidence d'aberrations passe à 1,5 %.

Au maximum au-dessus de 45 ans, le pourcentage de naissances ne représente que 0,1 % et l'incidence d'aberrations atteint : 6,21 %.

Ces résultats confirment ceux de tous les auteurs précités.

Maternal Age (années)	% of all mongoloid children	% of all live births	% of all live births affected
< 19	4,1	9,2	0,06
20 - 24	19,9	35,5	0,07
25 - 29	21,9	32,9	0,09
30 - 34	16,4	14,9	0,14
35 - 39	16,7	5,9	0,37
40 - 44	16,7	1,5	1,50
> 45	4,3	0,1	6,21
Total	100 %	100 %	0,13

Tableau n° 6 - Data of Lindsjo showing the risk of Down's Syndrome at various maternal ages from a retrospective survey of swedish live births.

2.2.2 - RESULTATS DE NOTRE EXPERIENCE

Nous avons colligé 115 cas d'indications pour âge maternel élevé dont :

14 en 1975

36 en 1976

63 en 1977

Sur nos 237 observations, cette indication représente : 48 %.

L'âge des patientes s'échelonne de 35 à 47 ans (tableau n° 7) (diagramme n° 3).

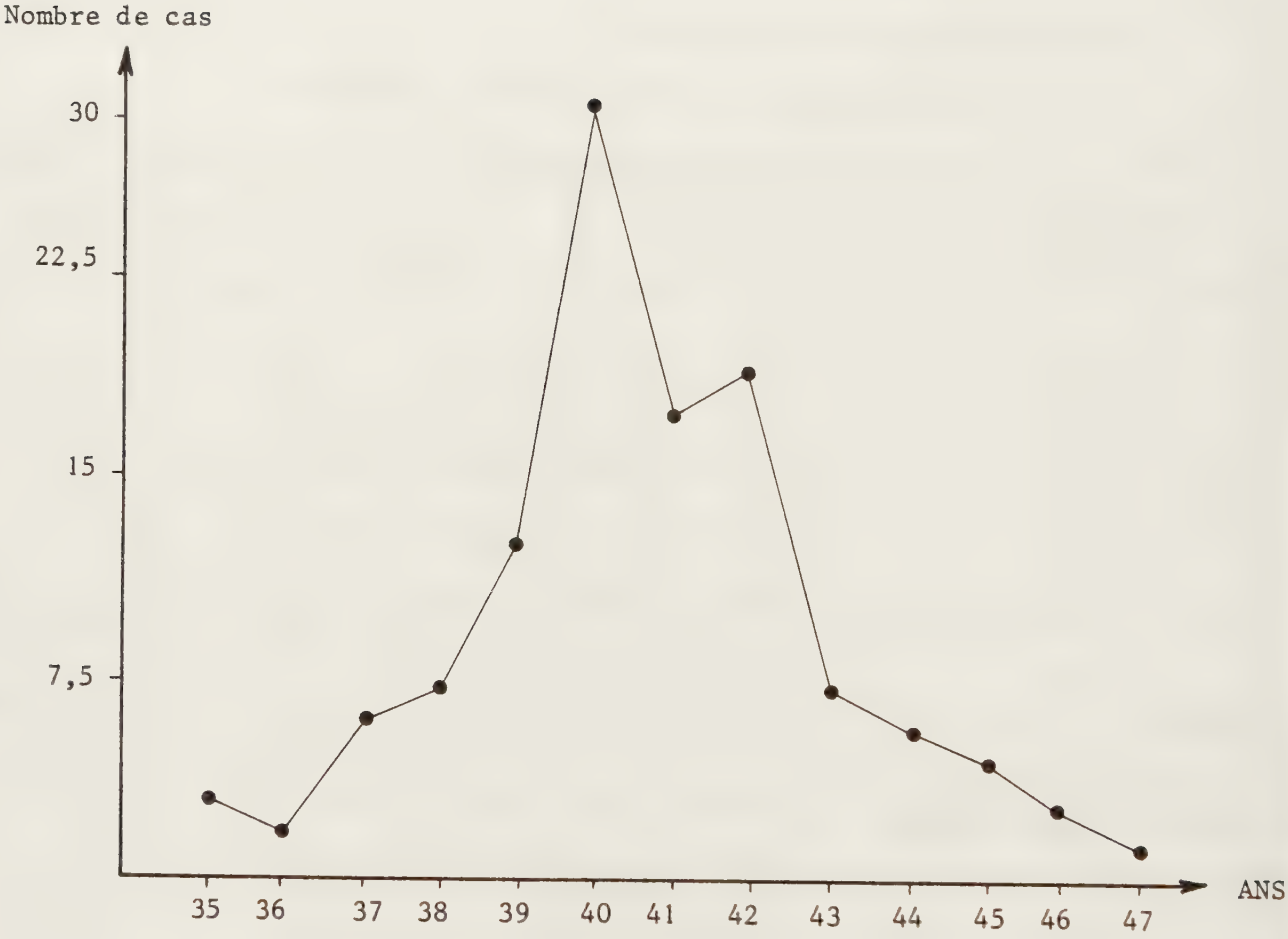
Nous pouvons faire deux subdivisions sur nos 115 cas :

- 100 indications pour âge maternel seulement.
- 15 indications pour âge maternel associées à une autre indication de valeur plus ou moins discutable.

Tableau n° 7 -

Répartition en fonction de l'âge maternel

ANS	NOMBRE
35	3
36	2
37	5
38	7
39	13
40	31
41	17
42	18
43	7
44	5
45	4
46	2
47	1



- Diagramme n° 3 - Répartition du nombre de diagnostics anténataux en fonction de l'âge.

2.2.2.1 - EXPLICATIONS SUR LES 15 CAS D'INDICATION DOUBLE

Dans ce groupe on retrouve la plus grande partie des âges maternels "bas" soit :

- les 3 de 35 ans.
- 1 de 36 ans sur 2
- 3 de 37 ans sur 5

En les analysant, on découvre :

2.2.2.1.1 - TROIS AGES MATERNELS DE 35 ANS QUI INVOQUAIENT EN PLUS :

- 1 spina bifida familial (soeur de la femme)
- 1 qui avait subi 3 radios lombaires pour anomalie de charnière lombo-sacrée en début de grossesse. Cette raison fut jugée acceptable par les généticiens.
- 1 infirmière qui avait subi un traitement à la "griséfuline" en début de gestation et une anesthésie générale pour suture tendineuse après rupture traumatique

Dans les deux premiers cas les indications s'additionnent, dans le troisième le contexte ne constituait pas une indication supplémentaire.

2.2.2.1.2 -

4 femmes qui avaient déjà eu un trisomique :

- 3 trisomies 21
- 1 trisomie 18.

2.2.2.1.3 -

3 femmes pour âge maternel et antécédent familial de Trisomie 21.

2.2.2.1.4 -

1 âge maternel (37 ans) = observation remarquable. Après 15 ans de stérilité, décision d'adoption d'un petit garçon. Trois mois après cette adoption, consulte pour aménorrhée : grossesse en cours. Enfant né Normal. Deux ans après cette 1ère grossesse, nouvelle gravidité à 37 ans et décision de diagnostic anténatal. Le caryotype des parents n'est pas fait, et la culture cellulaire révèle un enfant transloqué 14-15 équilibré, résultat qui fait pratiquer à titre rétrospectif le caryotype des parents (père transloqué 14-15 équilibré).

2.2.2.1.5 -

1 âge maternel de 38 ans associé à 1 âge paternel de 66 ans.

2.2.2.1.6 -

1 âge maternel de 36 ans chez une femme dont le mari est hémiparétique depuis l'âge de 32 ans (refus d'envisager 2 handicapés à la maison)

2.2.2.1.7 -

1 âge maternel de 42 ans avec 2 antécédents de mort in utero (néphropathie gravidique) et 2 enfants vivants normaux.

2.2.2.1.8 -

1 âge maternel de 37 ans, avec un mari porteur de malformations non chromosomiques (observation non détaillée sur les malformations du père car hors C.H.U.)

2.2.2.2 - AGE MATERNEL ET PARITE

Sur les 115 femmes, 32 n'avaient pas d'enfant dont :

- 16 étaient des multigestes avec des antécédents de 1 à 4 FCS.
- 16 étaient des primigestes âgées.

2.2.2.3 - DECOUVERTE D'ANOMALIE CHROMOSOMIQUE CHEZ LES PARENTS LORS DU CARYOTYPE SYSTEMATIQUE.

Dans les 115 observations, les membres du couple ont eu un caryotype à titre systématique, examen qui a mis en évidence 5 anomalies, soit 4,3 %.

- 1 inversion péricentrique du chromosome 1 (l'enfant naîtra XY avec cette inversion) n° 235.
- 1 translocation 14-15 du mari (l'enfant sera transloqué équilibré).
- 1 translocation 13-14 de la femme (l'enfant naîtra non transloqué).
- 1 autre translocation 13-14 du mari (enfant normal).
- 1 translocation 4-17 de la femme (enfant normal).

En résumé :

- 4 translocations équilibrées
- 1 inversion péricentrique.

Il est intéressant de noter que 4,3 % des couples étaient porteurs d'une anomalie chromosomique capable d'induire l'effet interchromosomique dont nous avons parlé au chapitre précédent ; ces chiffres viennent renforcer l'indication de l'âge maternel dont nous venons de voir les risques intrinsèques.

2.3 - INDICATIONS POUR MALADIES GENIQUES

2.3.1 - ETUDE DES MALADIES GENIQUES

On classe dans ce groupe, large par le nombre de maladies, les affections engendrées par une mutation génique donc non diagnosticables par un caryotype (123) (32).

Ces indications seraient un faible pourcentage du pool des diagnostics anténataux si on en séparait les malformations du tube neural comme le fait GALJAARD qui, sur 6 121 grossesses étudiées en expose 7 % :

4 % de maladies liées à l' X

3 % de maladies métaboliques.

La classification de ces maladies géniques est délicate ; si elle est simple sous son angle génétique, elle se complique sous son angle "méthode de diagnostic". Nous envisagerons successivement les deux :

2.3.1.1 - CLASSIFICATION GENETIQUE

Elle se fait en trois groupes :

2.3.1.1.1. - MALADIES AUTOSOMIQUES RECESSIVES

Il s'agit d'un gène mutant sur un des autosomes et dont la présence sur un seul chromosome d'une même paire n'a pas de conséquence pathologique. Par contre si le gène mutant est présent en double (apporté par le père et la mère) il va s'exprimer par un phénotype anormal.

La transmission est "Mendélienne".

2.3.1.1.2 - MALADIES LIEES A L' X

Il s'agit de mutations géniques portées par le gonosome X .

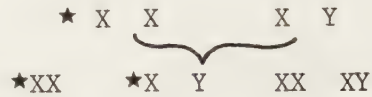
Elles sont de 2 types :

2.3.1.1.2.1 - Récessives liées à l' X .

L'expression en est variable suivant que le porteur est la mère ou le père.

2.3.1.1.2.1.1 - La mère est conductrice

La maladie n'est pas exprimée chez la mère, mais s'exprimera chez le garçon lorsque l'X est uni après la gamétogenèse à l'Y du père.



La descendance sera :

- 50 % des filles sont porteuses non malades.
- 50 % des garçons sont porteurs malades.

Seuls les garçons seront atteints et seulement une fois sur 2.

2.3.1.1.2.1.2 - Le père est porteur "malade"



Aucun enfant n'est malade mais toutes les filles sont conductrices obligatoires (cas de l'hémophilie).

2.3.1.1.2.1.3 - Exceptionnellement le couple est constitué d'un homme malade et d'une femme conductrice.

2.3.1.1.2.2 - Dominantes liées à l'X

Dans ce cas la mutation dominante peut être portée par la mère ou par le père.

2.3.1.1.2.2.1 - par la mère :

Si l'anomalie génique est portée par un X de la mère, 2 possibilités :

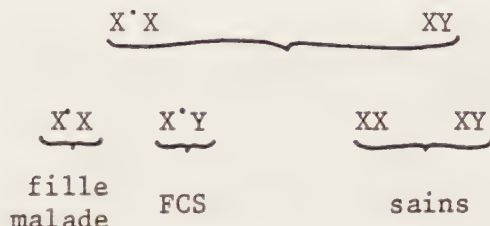
- la maladie n'est pas létale et on aura :
 - . 1 fille sur 2 malade
 - . 1 garçon sur 2 malade.

exemple : rachitisme vitamino-résistant.

- la maladie est létale pour le garçon :

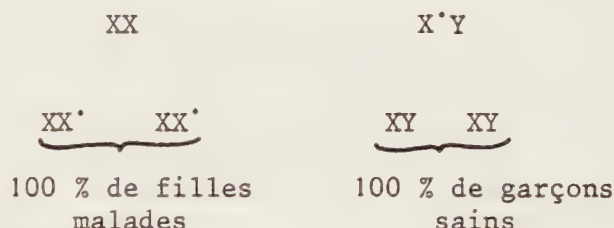
- . 1 fille sur 2 sera malade
- . 1 garçon sur 2 sera sain, l'autre donnant lieu à une fausse couche spontanée (FCS).

exemple : le syndrome ORO-FACIO-DIGITAL de type I



2.3.1.1.2.2.2 - par le père :

Si l'anomalie génique est portée par l' X du père et autorise survie et fécondité, la descendance sera :



2.3.1.1.3 - MALADIES GENIQUES MULTIFACTORIELLES

Il s'agit des malformations du tube neural : Anencéphalie et Spina Bifida. Ces maladies géniques multifactorielles donnent des malformations, résultant de gènes nombreux non individualisés, et de circonstances ambiantes non précisées.

La valeur de ce modèle multifactoriel permet de rendre compte de façon satisfaisante de la distribution des malformations dans les populations et les familles et d'en tirer certaines déductions sur le risque de récurrence. Ce risque n'est ni de 25 % comme dans les autosomiques récessives, ni de 50 % comme dans les dominantes mais "inférieur et chiffrable empiriquement" en faisant un arbre généalogique et des calculs savants décrits par BONAÏTI (9). Dans ce travail de 1976 de nombreux calculs sont rapportés pour des malformations dont nous possédons la fréquence chez les parents du 1er degré. Les deux tableaux n° 8 et n° 9 montrent le risque de récurrence des spina bifida et Anencéphalies dans des régions dites "à forte" et "à faible" fréquence en France. (Tableaux n° 8 et 9).

L'analyse du tableau à "forte fréquence" met en évidence que le risque de récurrence :

- est de 0,2 si les parents sont sains et s'il n'y a pas d'antécédents familiaux.

	Parents									
	Aucun atteint		Père atteint		Mère atteinte		Tous deux atteints			
	PAT	MAT	PAT	MAT	PAT	MAT	PAT	MAT		
Parent atteint dans la famille										
Aucun germain	0,2		2,6		2,4		17,0			
1 germain non atteint	0,2		2,4		2,3		15,6			
1 frère atteint	2,4		7,7		7,5		23,6			
1 sœur atteinte	2,2		7,5		7,3		23,3			
1 SA + 1 GN	2,1		7,0		6,8		21,6			
2 frères atteints	6,9		13,8		13,6		29,5			
1 F + 1 SA	6,7		13,7		13,5		29,1			
2 SA	6,6		13,7		13,5		28,7			
2 SA + 1 GN	6,2		12,7		12,5		26,8			
1 parent du 2nd degré atteint	0,8	0,8	3,6	7,1	4,3	3,5	21,6	21,7		
1 F + 1 2nd A	4,4	4,4	9,3	13,9	10,4	9,1	28,0	28,1		
1 S + 1 2nd A	4,2	4,2	9,2	13,9	13,6	9,0	27,6	27,7		
1 S + 1 2nd A + 1 GN	4,0	4,0	8,5	12,8	12,5	8,4	25,6	25,7		
2 G + 1 2nd A	9,7	9,7	15,7	20,7	20,4	15,6	33,0	33,1		
2 G + 1 2nd A + 1 GN	9,1	9,0	14,5	19,1	18,9	14,4	30,9	31,1		
1 parent du 3me degré atteint	0,4	0,4	3,1	4,5	4,3	3,0	19,5	19,4		
1 F + 1 3me A	3,4	3,4	8,5	10,7	10,4	8,3	26,0	26,0		
1 S + 1 3me A	3,2	3,2	8,4	10,6	10,4	8,2	25,6	25,7		
1 F + 1 2nd PAT + 1 3me A	5,5	6,2	10,0	12,9	17,0	15,2	30,0	30,6		
1 F + 1 2nd MAT + 1 3me A	6,2	5,5	15,4	17,3	12,7	9,9	30,7	30,2		
1 S + 1 2nd PAT + 1 3me A	5,3	6,0	10,0	12,8	16,9	15,1	29,6	30,2		
1 S + 1 2nd MAT + 1 3me A	6,0	5,3	15,4	17,2	12,6	9,8	30,3	29,8		
1 S + 1 3me A + 1 GN	3,0	3,0	7,8	9,8	9,6	7,7	23,8	23,8		
2 G + 1 3me A	8,3	8,2	14,8	17,4	17,2	14,7	31,3	31,4		
2 G + 1 3me A + 1 GN	7,7	7,7	13,7	16,1	15,8	13,6	29,3	29,3		
2 G + 1 2nd PAT + 1 3me A + 1 GN ..	10,4	11,3	15,3	18,3	21,9	20,4	32,6	33,2		
2 G + 1 2nd MAT + 1 3me A + 1 GN ..	11,3	10,4	20,6	22,2	18,1	15,2	33,3	32,9		

Symbole : F = frère, S = sœur, G = germain, A = atteint, N = non atteint, PAT = paternel, MAT = maternel, 2nd = parent du second degré, 3me = parent du troisième degré.

Tableau n° 8 - Risques de récurrence pour 1'anencéphalie et le spina-bifida dans les régions à forte fréquence en France (%).
Fréquence (%) : Globale 0,20, Masc/ 0,18, Fém. 0,22, Héritabilité 0,64.

Parent atteint dans la famille	Parents							
	Aucun atteint		Père atteint		Mère atteinte		Tous deux atteints	
	PAT	MAT	PAT	MAT	PAT	MAT	PAT	MAT
Aucun germain								
1 germain non atteint	0,1		1,4		1,4		13,1	
	0,1		1,4		1,3		12,2	
1 frère atteint								
1 sœur atteinte	1,4		5,2		5,2		19,3	
1 SA + 1 GN	1,4		5,1		5,1		19,1	
	1,3		4,9		4,8		17,9	
2 frères atteints								
1 F + 1 SA	5,0		10,3		10,2		24,5	
2 SA	4,9		10,1		10,0		24,4	
2 SA + 1 GN	4,8		10,0		9,9		24,2	
	4,6		9,4		9,3		22,9	
1 parent du 2nd degré atteint								
1 F + 1 2nd A	0,4	0,4	2,1	4,9	4,8	2,0	17,2	17,2
1 S + 1 2nd A	3,0	2,9	6,3	10,7	10,6	6,2	23,1	23,2
1 S + 1 2nd A	2,9	2,9	6,2	10,6	10,4	6,1	22,9	23,0
1 S + 1 2nd A + 1 GN	2,7	2,7	5,9	9,9	9,8	5,8	21,5	21,6
2 G + 1 2nd A	7,3	7,2	11,3	16,5	16,3	11,2	27,6	27,7
2 G + 1 2nd A + 1 GN	6,9	6,8	10,6	15,4	15,2	10,5	26,1	26,2
1 parent du 3me degré atteint								
1 F + 1 3me A	0,2	0,2	1,8	2,8	2,7	1,8	15,5	15,5
1 S + 1 3me A	2,2	2,1	5,9	7,7	7,6	5,8	21,6	21,6
1 F + 1 2nd PAT + 1 3me A	2,1	2,1	5,8	7,6	7,5	5,7	21,4	21,4
1 F + 1 2nd MAT + 1 3me A	3,8	4,4	6,9	9,3	9,2	11,9	25,0	25,7
1 S + 1 2nd PAT + 1 3me A	4,4	3,8	12,0	13,9	13,7	11,8	25,8	25,1
1 S + 1 2nd MAT + 1 3me A	3,7	4,3	6,8	9,2	9,1	6,7	24,8	25,6
1 S + 1 3me A + 1 GN	4,3	3,7	11,9	13,7	13,6	11,8	25,6	24,9
2 G + 1 3me A	2,0	2,0	5,5	7,2	7,1	5,4	20,1	20,1
2 G + 1 3me A + 1 GN	6,1	6,1	10,8	13,3	13,2	10,7	26,3	26,4
2 G + 1 2nd PAT + 1 3me A + 1 GN ..	5,8	5,8	10,2	12,4	12,3	10,1	24,9	24,9
2 G + 1 2nd MAT + 1 3me A + 1 GN ..	8,0	8,8	11,2	14,0	18,3	16,6	27,8	28,5
	8,8	8,0	16,7	18,5	13,9	11,1	28,5	27,9

Symbole : F = frère, S = sœur, G = germain, A = atteint, N = non atteint, PAT = paternel, MAT = maternel, 2nd = parent du second degré, 3me = parent du troisième degré.

Tableau n° 9 - Risques de récurrence pour l'anencéphalie et le spina bifida dans les régions à faible fréquence en France.
Fréquence (%) : Globale 0,07, Masc. 0,06, Fém. 0,07, Héritabilité 0,64.

- passe à 2,6 si le père est atteint et à 17 si les 2 parents sont atteints.
- et se situe si un frère est atteint :
 - . à 2,4 avec des parents sains.
 - . à 7,7 avec le père atteint.
 - . à 23,6 avec des parents atteints.

Ainsi les risques sont calculés en fonction du nombre d'atteinte antérieure dans la famille.

Ces chiffres sont suffisamment significatifs pour que les malformations du tube neural fassent partie des indications du diagnostic anténatal.

2.3.1.2 - CLASSIFICATION SELON LES METHODES DE DIAGNOSTIC

Si il est aisé de faire la distinction théorique des trois anomalies géniques, leur reconnaissance pratique dans le diagnostic prénatal impose une nouvelle classification.

Nous distinguerons deux sortes de maladies géniques :

2.3.1.2.1 - MALADIES IDENTIFIABLES PAR UN "DIAGNOSTIC BIOCHIMIQUE" A PARTIR DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

2.3.1.2.1.1 - Diagnostic biochimique SPECIFIQUE

Ce sont les "maladies Métaboliques" qui concernent aussi bien les maladies autosomiques récessives que les liées à l'X si elles ont une expression chimique identifiable dans le liquide amniotique ou dans les cellules de ce liquide mises en culture.

La mutation d'un gène a pour conséquence une anomalie de fonctionnement d'un enzyme qui peut être :

- . quantitative : diminution ou absence de synthèse de l'enzyme.
- . qualitative : modification structurale de la protéine enzymatique la rendant inapte à assurer sa fonction.

Le diagnostic spécifique de ces maladies se fera :

- soit par la mesure dans les tissus atteints de l'activité enzymatique en cause et parfois par l'étude qualitative de sa structure protéique.
- soit par la mesure de son expression biochimique dans les liquides biologiques.

La liste des Maladies métaboliques identifiables s'allonge chaque jour ;

nous proposons ici celle établie au 1er janvier 1976 (160) par SVENNER.

1 - LIPIDOSES

- GM₁ gangliosidose
- GM₂ gangliosidose
- Maladie de GAUCHER
- Maladie de NIEMANN - PICK
- Maladie de KRABBE
- Leucodystrophie métachromatique
- Maladie de FABRY
- Maladie de WOLMAN
- Maladie de REFSUM

2 - MUCOPOLYSACCHARIDOSES

- Mucopolysaccharidose de type I (HURLER + SCHEIE)
- Mucopolysaccharidose de type II (HUNTER)
- Mucopolysaccharidose de type III (SANFILIPPO A + B)
- Mucopolysaccharidose de type IV (Syndrome de MORQUIO)
- Mucopolysaccharidose de type VI (Syndrome de MAROTEAUX LAMY)
- Mucopolysaccharidose de type VII : déficit en Bêta glucuronidase
- Mucolipidose de type II
- Mucolipidose de type III

3 - ANOMALIE DU METABOLISME DES AMINO-ACIDES ou PROCHES :

- Acidurie argino-succinique
- Aspartyl glucose aminurie
- Citrullinémie
- Cystinose
- Cystininémie
- Homocystinurie
- Hyperammoniémie
- Hyperlysinémie
- Hypervalinémie
- Acidémie isovalérique
- leucinose
- acidurie méthylmalonique
- Déficit en méthylène tétra-hydrofolate reductase
- Déficit en méthylène tétra hydrofolate méthyl transférase.

- Déficit en ornithine alpha céto acide transaminase
- Acidémie propionique

4 - ANOMALIE DU METABOLISME DES HYDRATES DE CARBONE

- Fucosidose
- Déficit en galactokinase
- Galactosémie
- Déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase
- Glycogenose II, III, IV
- Mannosidose
- Déficit en phosphohexose isomérase
- Déficit en pyruvate décarboxylase
- Déficit en pyruvate déhydrogénase

5 - DIVERS

- Déficit en adénosine désaminase
- Déficit en phosphatase acide
- Syndrome de Lesh Nyhan
- Maladie de Menkès
- Xeroderma pigmentosum.

2.3.1.2.1.2 - Diagnostic biochimique ASPECIFIQUE

2.3.1.2.1.2.1 - Recherche d'une élévation anormale de l'alpha foeto protéine dans le liquide amniotique

L'AFP ne sera qu'un diagnostic indirect de la maladie en cause. Le taux pathologique n'aura pas de valeur étiopathogénique mais jouera un rôle de révélateur dans un contexte précis de diagnostic anténatal.

L'AFP servira donc le diagnostic :

2.3.1.2.1.2.1.1 - des malformations du tube neural ouvertes : Spina- bifida et anencéphalies (cf. AFP).

2.3.1.2.1.2.1.2 - des omphalocèles :

C'est DEBRUIJN et coll. (21) qui rapporte le premier cas à 33 semaines.

Puis NEVIN (122) fait le premier diagnostic prénatal d'une omphalocèle sur une grossesse triple à 16 semaines. L'hypothèse physiopathologique pour expliquer l'augmentation du taux d'AFP dans le liquide amniotique fait intervenir la "leakage theory". A partir de l'exposition des vaisseaux des organes herniés il pourrait y avoir transsudation de l'AFP foetale.

2.3.1.2.1.2.1.3 - Syndrome néphrotique congénital ou syndrome finlandais.

MILUNSKY (113) publie 5 cas de diagnostic antenatal. Bien que la moitié des cas décrits soit d'origine finlandaise on en voit dans tous les pays.

La pathogénie demeure inconnue quoiqu'on sache qu'il s'agit d'une atteinte glomérulaire et que le taux d'AFP dans le liquide amniotique soit à rattacher à la protéinurie (85). Il s'agit d'une maladie autosomique récessive.

Les auteurs (113) (85) ont essayé d'établir une corrélation entre l'augmentation de l'AFP dans le liquide amniotique et le taux dans le sérum maternel. Si dans le premier cas le témoin est fidèle, dans le deuxième il semble fidèle mais inconstant, d'autant qu'on peut rencontrer des augmentations d'AFP chez la femme enceinte lors de souffrance foetale, de maladie Rhésus, d'hépatite...

2.3.1.2.1.2.1.4 - Syndrome de MECKEL

Décrit par J.F. MECKEL en 1822 puis par VROLIK en 1854, JOLY en 1866 sous le terme de "Dysencéphalia splanchnocystica".

En 1969 OPITZ (129) délimite le syndrome et suggère une transmission autosomique récessive qui est démontrée par MECKE et PASSARGE (107) en 1971.

En 1971, HSIA et coll. définissent les critères de diagnostic et émet l'hypothèse d'une anomalie génique récessive touchant les chromosomes du groupe D (en raison de la ressemblance avec la trisomie 13).

Ce syndrome associe :

- Reins polykystiques
- Méningocèle ou méningo-encéphalocèle postérieure.
- Polydactylie
- Fente palatine, fissure labiale.
- d'autres malformations moins fréquentes.

C'est une maladie autosomique récessive qui est léthale en général ; il est quelques cas de survie courte : OPITZ (129), WALBAUM (169), FAUGEROUX (42), NAFFAH (118). La récurrence théorique de 25 % à chaque grossesse impose le conseil génétique. Sa fréquence est de 1 pour 10 000. Au point de vue obstétrical : dans la majorité des cas l'accouchement se fait prématurément vers 33 semaines ; la dystocie est fréquente due soit à l'encéphalocèle postérieure soit à l'abdomen proéminent.

2.3.1.2.1.2.1.5 - Reins polykystiques (cf. Meckel).

2.3.1.2.1.2.2 - Recherche d'autres paramètres biologiques que l'AFP, comme marqueurs des malformations du tube neural. I

Il en est plusieurs :

2.3.1.2.1.2.2.1 - Les Macrophages foetaux.

C'est SUTHERLAND (159) qui a montré que les liquides amniotiques de grossesses d'enfants malformés du tube neural, contenaient une forte proportion de cellules adhérant rapidement aux parois des tubes plastiques et ce en moins d'un jour, alors que celles d'une grossesse normale adhèrent doucement en plusieurs jours. Ces cellules particulières avaient les propriétés de macrophages et **étaient** d'origine foetale. Cette technique fut utilisée avec succès dans l'identification de spina et anencéphalies (159) (119) ; mais il y eut des faux positifs et cette technique reste réservée pour interpréter un taux élevé d'AFP lorsqu'on ne sait s'il s'agit d'une malformation du tube neural ou d'une contamination du liquide amniotique par du sang foetal (cf. AFP).

2.3.1.2.1.2.2.2 - Béta trace protein ou B.T.P.

Elle peut être détectée dans les liquides amniotiques des malformations du tube neural. Après de nombreuses études, la B.T.P. a été abandonnée, car dosée parallèlement avec l'AFP dans des grossesses normales et des anomalies du tube neural, elle n'a pas été interprétable (100) (128) (18).

2.3.1.2.1.2.2.3 - Deux nouveaux paramètres semblent prometteurs dans ce type de malformation.

- . L'alpha 2 macroglobuline
- . Le béta - lipoprotéine.

Elles ont toutes deux un gros poids moléculaire et se retrouvent dans le liquide amniotique lors des malformations du tube neural (19). Des dosages précis ont déjà été effectués (17) mais leur interprétation devient difficile s'il y a contamination du liquide amniotique par le sang maternel.

2.3.1.2.2 - MALADIES NON IDENTIFIABLES BIOCHIMIQUEMENT, MAIS SOUPÇONNABLES PAR LE DIAGNOSTIC DU SEXE.

Il s'agit de maladies liées au sexe donc touchant exclusivement soit les garçons soit les filles (cf. indication) mais dont on ne sait pas faire le diagnostic biochimique spécifique. On se contentera d'un diagnostic de sexe.

2.3.1.3 - CHOIX DE LA METHODE DE DIAGNOSTIC ANTENATAL

Il se fera par la combinaison des deux classifications : génétique et méthode de diagnostic.

2.3.1.3.1 -

Si la maladie est décelable biochimiquement que ce soit de façon spécifique ou par l'AFP, on pourra obtenir la certitude d'une atteinte foetale, et alors se posera le problème de l'interruption thérapeutique de grossesse.

2.3.1.3.2 -

Si la maladie n'est pas diagnosticable biochimiquement mais qu'il s'agit d'une maladie liée au sexe, le problème éthique va être majeur devant l'attitude à avoir. En effet ce n'est plus sur une preuve irréfutable mais sur un raisonnement probabiliste de statisticien qu'une attitude eugénique sera envisagée. Le conseil génétique devra considérer le type de maladie liée à l'X.

2.3.1.3.2.1 - Récessives liées à l'X.

Le caryotype foetal donnera le sexe. S'il est 46 XX (fille), il n'y aura aucune inquiétude quant à l'enfant à naître qui sera soit sain soit porteur sain. S'il est 46 XY (garçon), un enfant sur deux risque d'être atteint sans moyen de les différencier. Les parents ayant demandé un diagnostic anténatal, c'est et ce de façon logique, qu'ils ont envisagé la conséquence d'interruption de grossesse supprimant tous les garçons.

exemple : Myopathie de Duchenne.

Cet exemple de maladie récessive liée à l'X montre l'effort actuel de tous les chercheurs pour arriver à un diagnostic précis et éviter l'attitude eugénique statistique. En effet dans quelques centres seulement on pratique des dosages de créatine phosphokinase dans le sang foetal obtenu soit par foetoscopie soit par ponction placentaire (cf : perspective d'avenir).

2.3.1.3.2.2 - Dominantes liées à l'X.

Notre seule méthode d'approche du diagnostic est dans ce cas aussi, indirecte basée sur le caryotype qui donne le sexe. Ces maladies liées à l'X sont celles qui demandent les explications les plus complètes de la part du généticien, et les efforts de compréhension les plus sérieux de la part du couple, car elles mèneront au diagnostic anténatal et de ce fait à sa conséquence (l'interruption de grossesse).

Il est alors nécessaire de bien distinguer les divers cas de Dominance liée à l'X pour pouvoir envisager le plus scientifiquement possible, les attitudes à proposer.

2.3.1.3.2.2.1 - Dominance liée à l'X de la mère.

. la maladie n'est létale pour aucun des deux sexes :

50 % des enfants aussi bien garçon que fille seront atteints.

C'est une IMPASSE : il faudrait supprimer les filles et les garçons.

Dans ce cas, il n'y a donc pas d'indication de "Diagnostic Antenatal".

exemple : le Rachitisme vitamino résistant.

. la maladie est létale pour le garçon :

Un garçon sur deux est atteint, mais celui qui est malade n'est pas viable entraînant une fausse couche.

Une fille sur deux est atteinte.

L'attitude sera :

- si c'est une fille : interruption
- si c'est un garçon : abstention car une grossesse évolutive sera la garantie qu'il s'agit d'un garçon sain.

exemple : Syndrome ORO-FACIO-DIGITAL de type I ou syndrome de Papillon - Léage - Psaume décrit en 1954.

Il ne doit pas être confondu avec le syndrome oro-facio-digital de type II ou syndrome de MOHR décrit en 1941 et dont la transmission est autosomique récessive. D'où l'"IMPORTANCE" de faire un diagnostic précis du type de syndrome qui dictera une attitude inverse suivant le cas.

2.3.1.3.2.2.2 - Dominances liées à l'X du père.

Dans ce cas, 100 % des filles seront malades et 100 % des garçons seront sains. Dans cette proposition, le diagnostic du sexe sera un diagnostic de "certitude" d'atteinte foetale.

En conclusion de ce chapitre, nous rappelons que nous avons seulement exposé quelles étaient les Maladies géniques qui pouvaient bénéficier d'un diagnostic anténatal dont la valeur est totale dans le plus grand nombre de cas, mais qui reste malheureusement incomplète pour une petite part.

En ayant informé le couple postulant des caractères communs à ces affections d'être toujours graves, actuellement non curables, souvent mortelles dans les premières années de la vie ou sinon mentalement invalidantes, nous ne prenons aucune part dans la nécessité d'une amniocentèse précoce, ni et surtout dans la prévision en cas d'atteinte foetale d'une interruption de grossesse.

Les parents sont et doivent rester, non les seuls responsables, mais les seuls aptes à décider.

2.3.2 - NOS RESULTATS SUR LES MALADIES GENIQUES

Nous avons trouvé 43 cas de maladies géniques soit 17 % de toutes nos indications (tableau n° 10).

43 maladies géniques						
Type du Diagnostic	Autosomiques récessives		Liées à l'X		Malformations du tube neural	
	Nbre	8	Nbre	7	Nbre	28
BIOCHIMIQUE SPECIFIQUE	3	HURLER	2	LESH - NYHAN		
	1	POMPE	1	MENKES		
	1	MPS type VII				
	1	LANDING				
	1	MANNOSIDOSE				
BIOCHIMIQUE ASPECIFIQUE (AFP)	1	MECKEL			11	ANENCEPHALIES
					16	SPINA
					1	MALFORMATION DU PROSENCE-PHALE
par le sexe			2	DUCHENNE		
			1	BECKER		
			1	ORO-FACIO-DIGITAL		
	8	Autosomiques récessives	7	liées à l'X	28	Malformations du tube neural

Tableau n° 10 - Nos 43 indications de maladie génique.

2.3.2.1 - MALADIES AUTOSOMIQUES RECESSIVES

Il y en eut 8 soit :

. 7 diagnostiquées spécifiquement :

- 3 HURLER (n° 151, 249, ?)
- 1 POMPE (n° 157)
- 1 MPS type VII (n° 274)
- 1 LANDING (n° 275)
- 1 MANNOSIDOSE (n° 200)

. 1 diagnostiquée par AFP.

- 1 syndrome de Meckel (n° 774).

Exposé de ces maladies et de leurs observations :

2.3.2.1.1 - HURLER : 3 cas.

- Il s'agit d'une mucopolysaccharidose de type I.

- L'apparition clinique se fait entre 1 et 2 ans :

Dysmorphie, démarche simiesque, scaphocéphalie, yeux globuleux avec aspect laiteux de la cornée puis opacité totale, hépatosplénomégalie. Le retard psychomoteur aboutira à une débilité profonde. La mort survient en général avant 10 ans.

- Transmission autosomique récessive.

- Diagnostic : se fait sur :

- . Hémogramme : leucocytes anormaux (cellules de "Gasser", cellules d'"Alder"
- . myélogramme : cellules de Gasser, réticulocytes à granulations basophiles et cellules de Buhot (aspect de plasmocyte à granulations basophiles).
- . SURTOUT : dans les fibroblastes cutanés (d'où intérêt de Amniocentèse).
Incorporation du $^{35}\text{SO}_4$
Test de réaction croisée.
Déficit en Alpha L iduronidase.

1ère OBS. n° 151 - Mme BAR... accouche en 1970 d'un enfant porteur de HURLER qui décède à 18 mois.

Enquête génétique négative.

En 75, informée de possibilité de Diagnostic Prénatal : nouvelle grossesse Ponction à 16 SR.

Les cellules sont envoyées à Chicago à Monsieur le Professeur NADLER.

L'incorporation de $^{35}\text{SO}_4$ est normale.

L'enfant n'aîtra normal avec un taux de MPS urinaires normal au dosage et à la chromatographie.

2ème OBS. - Mme PRU...

Naissance d'un premier enfant dont le diagnostic de Hurler sera posé et confirmé par le taux de MPS urinaires élevé et l'étude enzymatique des fibroblastes par NADLER.

En 74, nouvelle grossesse, ponction ; fibroblastes à Chicago → enfant sain

Une 3ème grossesse en 77, ponction, culture de cellule amniotique adressée à Rotterdam à W. Kleijer, service du Pr GALJAARD : Résultat : foetus atteint. Interruption de grossesse à 23 semaines et confirmation de l'atteinte foetale.

3ème OBS. n° 249 - Mme NEY...

1er enfant en 74, malade en 76, hospitalisé et le diagnostic de HURLER est porté sur les MPS urinaires et les cultures de fibroblastes. 2ème grossesse Ponction à 16 SR, envoi des cellules amniotiques et des cellules de la mère à Rotterdam.

Réponse : foetus atteint

mère hétérozygote.

Une interruption de grossesse à 21 semaines confirme l'atteinte foetale.

2.3.2.1.2 - 1 MALADIE DE POMPE

- Il s'agit d'une glycogénose, caractérisée par une surcharge des tissus en glycogène, anormal en quantité et/ou en qualité, due à un déficit enzymatique spécifique d'origine génique : en l'occurrence il s'agit de alpha 1 - 4 glucosidase lysosomiale ou maltase acide.
- Transmission autosomique récessive.
- Clinique : soit précoce (POMPE) soit plus tardif (GUNTHER) :
Hypotrophie, cardiomégalie, hépatomégalie et hypotonie.
- Diagnostic :
Dans le cadre du diagnostic anténatal, il se fait avec les fibroblastes cultivés à partir du liquide amniotique et dans lesquels on dose "l'activité enzymatique de l'alpha 1 - 4 glucosidase.

OBS. n° 157 - Mme JAR...

1er enfant en 74, hospitalisé à 2 mois et décès à 2 mois 1/2 avec le diagnostic de POMPE après examen des viscères (infiltration glycogénique). Nouvelle grossesse en 75 - Ponction à 18 SR.
L'activité en maltase **acide** des cellules est normale.
L'enfant **nait** sain et est confirmé sain.

2.3.2.1.3 - 1 MUCOPOLYSACCHARIDOSE TYPE VII.

Décrite en 1973 - correspond à un déficit enzymatique en Béta glucuronidase acide (47).

Il en existe que peu de cas publiés.

Début précoce : Dysmorphie foetale, retard psychomoteur, déformations squelettiques, la radiologie révèle la Dysostose. Hépatosplénomégalie et opacités cornéennes.

Biologie :

- Inclusions granulocytaires
- Elévation des mucopolysaccharides urinaires surtout dans les fractions chondroitines 4 et 6 sulfates

Diagnostic :

- Etude de l'activité enzymatique de la Béta glucuronidase acide dans les leucocytes, le sérum, les fibroblastes cutanés et les cellules amniotiques en culture.
Transmission Autosomique récessive. Les hétérozygotes ont un taux intermédiaire d'activité en Béta glucuronidase.

OBS. n° 274 - Mme ELK...

Ménage consanguin

2 premiers enfants normaux.

2 autres enfants atteints de la Maladie.

Les dosages de Béta glucuronidase montrent l'homozygotisme des 2 enfants atteints et l'hétérozygotisme des 2 parents et des 2 enfants sains.

Nouvelle grossesse en 77. Ponction amniotique. Activité des cellules amniotiques en Béta glucuronidase NORMALE.

L'enfant naîtra saine hétérozygote contrôlée.

2.3.2.1.4 - 1 MALADIE DE LANDING

Il s'agit d'une gangliosidose à GM₁ décrite par LANDING en 1964 sous le nom de "Lipidose neuroviscérale familiale" (89).

C'est en 1967 que Van Hoof et Hers mettent en évidence le déficit en Béta galactosidase acide.

Début à la naissance : faciès dysmorphique, déformations squelettiques, hépatosplénomégalie importante - tache rouge cerise en fond d'oeil. Evolution mortelle en 18 à 24 mois.

Biologie : hypoprotéïnémie.

cellules de surcharge au myélogramme.

Diagnostic : par l'activité de la Béta galactosidase acide mesurée dans leucocytes, lymphocytes, dans les fibroblastes cutanés ou cellules amniotiques (70).

Transmission autosomique récessive.

OBS n° 275 - Mme RIC...

1er enfant né en 1973, décèdera à l'âge de 1 an avec le diagnostic de Landing.

En 1977, nouvelle grossesse.

L'enquête génétique montre que les parents sont hétérozygotes (taux intermédiaire).

Ponction amniotique : taux d'activité correspondant à un hétérozygotisme.

L'enfant naît à terme, et est contrôlé sain, hétérozygote.

2.3.2.1.5 - 1 MANNOSIDOSE

- Maladie de surcharge en oligosaccharides riches en Mannose due à l'anomalie de deux isoenzymes lysosomiales (A et B) de l'Alpha D mannosidase (103). Décrite en 1967 par OCKERMANN.

- Signes : faciès dysmorphique.

Le retard mental

Troubles de la parole.

Accessoirement : surdité, hernie ombilicale, hépatosplénomégalie...

- Transmission autosomique récessive.

- Diagnostic : oligosaccharidurie élevée composée d'oligosaccharides riches en mannose.
activité de l'alpha D Mannosidose.

OBS. n° 200 - Mme BOU...

2 premiers enfants ont 6 et 7 ans et tous les 2 atteints.

Les parents sont cousins germains.

Nouvelle grossesse en 1976. Ponction amniotique.

* Ce sera le 1er diagnostic prénatal mondial de Mannosidose à LYON

Le taux d'activité dans les cellules amniotiques montrent que l'enfant est atteint (le taux est le même que ceux des deux premiers enfants).

L'interruption de grossesse aura lieu à 21 semaines.

Contrôle du fœtus : confirme le diagnostic anténatal.

2.3.2.1.6 - 1 SYNDROME DE MECKEL (n° 774).

En ce qui concerne la maladie se rapporter au chapitre précédent. Maladie génique autosomique récessive, à diagnostic indirect par l'alpha foeto protéine.

Le syndrome de MECKEL apparaît bien cliniquement identifié comme nous l'avons décrit précédemment, mais il peut avoir des variantes : Chemke (28) décrit un diagnostic prénatal dans 1 famille ayant déjà eu 2 enfants nés porteurs de Meckel (malformation tube neural + reins polykystiques + hémidactylie).

Lors d'une nouvelle grossesse, ponction amniotique et découverte d'une élévation anormale du taux d'AFP. Décision d'interruption. Le fœtus mâle n'avait aucune malformation du tube neural, mais un gros abdomen avec reins polykystiques et une hexadactylie.

D'après l'auteur, il apparaît que le syndrome de Meckel est constitué :

- avant tout de RPK
- puis en alternance :
 - . soit de méningocèle post ou encéphalocèle,
 - . soit d'hémidactylie.

Nous avons aussi une observation de ce type datant de 1974 donc exclue de notre étude, Mme CIM..., dans lequel un taux d'AFP pathologique a entraîné une interruption d'un fœtus porteur seulement de reins polykystiques.

2.3.2.2 - MALADIES LIEES A L'X.

Nous en avons 7 dont :

- 3 diagnostiquées spécifiquement :
 - . 2 LESH-NYHAN (n° 164 - 208)
 - . 1 MENKES (n° 211).
- 4 diagnostiquées par le sexe :
 - . 2 DUCHENNE (n° 247 - 843)
 - . 1 BECKER (n° 239)
 - . 1 ORO-FACIO-DIGITAL (n° 224).

Exposé des maladies et de leurs observations :

2.3.2.2.1 - 2 LESH NYHAN

- Maladie familiale portant sur le métabolisme purinique chez des enfants de sexe mâle décrit par Lesh Nyhan en 1974.

- Clinique : encéphalopathie dès les premiers mois de la vie.

- Maladie à transmission gonosomique liée à l'X.

- Diagnostic : Déficit en Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase dosé dans les fibroblastes et les cellules amniotiques en culture (6).

1ère OBS n° 164 - Mme CHA...

1er enfant normal.

2ème enfant en 1963 hospitalisé de nombreuses fois pour troubles digestifs émission de calculs urinaires et hyperuricémie.

Le diagnostic ne sera fait qu'à l'âge de 6 ans par le professeur Nyhan, après mise en évidence du déficit en enzyme.

L'enquête génétique révèle que 2 frères de la postulante sont décédés à 1 an et 15 ans dans un tableau d'encéphalopathie avec goutte tophacée.

Mme CHA... est reconnue conductrice et une ponction amniotique est réalisée sur une nouvelle grossesse en 75.

Le caryotype répond garçon et les cellules amniotiques étudiées par auto-historadiographie après incorporation de ³H hypoxanthine montrent que le fœtus est sain.

Malheureusement 1 FCS survient 12 jours après ponction (pas d'explications)

2ème OBS. n° 208 - Mme FOU...

Nullipare : soeur de la précédente.

1 frère décédé à 15 ans dans un tableau d'encéphalopathie avec goutte tophacée.

1 neveu (enfant de Mme CHA...) de 13 ans lui aussi atteint et actuellement en traitement chez le Professeur JEUNE.

Des dosages enzymatiques de Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase (HGPR) chez Mme FOU... montrent qu'elle est hétérozygote conductrice. Ponction amniotique à 17 SR - caryotype XY - Les taux d'activité de l'HGPR sont comparables à ceux du sujet témoin. L'enfant XY est donc déclaré sain et naîtra sain.

2.3.2.2.2 - 1 MALADIE DE MENKES

- Décrite en 1962 par Menkès sous le nom de "Kinky hair disease". (108).

- Syndrome neurovégétatif rapidement mortel.

Début avant 6 mois

Retard staturo pondéral important - convulsions.
Cheveux blancs, rares, courts.
Anomalie osseuse radiologique rappelant le rachitisme.

- Il s'agit d'une absorption intestinale réduite du cuivre et l'accumulation de ce métal dans certains organes.

- Maladie récessive liée à l'X.

- Le diagnostic se fera sur l'anomalie de l'incorporation du ^{64}Cu radioactif dans les fibroblastes en culture (71).

OBS. n° 211 - Mme GRE...

1er enfant : garçon né en 74 est vite suspecté de la maladie.
Le diagnostic est fait par le ^{64}Cu dans le laboratoire de Mikkelsen, Copenhague).
Il sera alors suivi et traité par sels de cuivre intraveineux qui amélioreront toute la scène clinique excepté l'état neurologique. Il est encore en traitement en mai 1977.

Nouvelle grossesse → Amniocentèse à 15 semaines.
Le caryotype est XY, et l'incorporation du cuivre radioactif par les cellules amniotiques est normale.
A sa naissance l'enfant est vérifié normal.

2.3.2.2.3 - 2 MYOPATHIES DE DUCHENNE

Maladie génique liée à l'X récessive qui actuellement bénéficie d'un diagnostic indirect incomplet par la recherche du sexe.

Récemment la foetoscopie et la ponction transplacentaire risquent de faire changer de groupe le Duchenne pour le classer dans les maladies diagnosticables biochimiquement. En effet le dosage de la CPK (créatine phosphokinase) dans un échantillon de sang foetal de l'ordre du micromillilitre, semble permettre de porter le diagnostic (102) (147) (cf. perspective d'erreur).

Nos observations :

1ère OBS. n° 247 - Mme PLA...

Primipare

Enquête génétique :

- 3 cousins germains myopathes
- 2 tantes conductrices
- sa mère est conductrice
- la postulante est conductrice

Le caractère de conductibilité est reconnu par :

- Electromyogramme.
- Biopsie musculaire d'un jumeau : lésions directes mais nettes.

Une ponction est pratiquée à 16 semaines. Le caryotype est XX donc fille
→ on laisse évoluer la grossesse.

2ème OBS. n° 843 - Mme VEL...

"Cas étonnant"

Nullipare.

Enquête génétique familiale :

La postulante a un frère myopathe en train de mourir et un oncle myopathe.

Elle est conductrice ainsi que sa mère, tante, grand-mère.

- Ponction à 17 semaines : échec de culture, la ponction est repratiquée à 20 semaines et les résultats caryotypiques XY sont donnés au couple alors que la postulante a déjà ressenti les mouvements foetaux.

Le refus de l'interruption est alors catégorique.

La grossesse évolue jusqu'à terme et elle accouche en 78 d'un garçon qui est vérifié normal. Elle a joué sa chance !!!...

2.3.2.2.4 - 1 MYOPATHIE DE BECKER

C'est une myopathie assez rare, moins évolutive que le Duchenne puisqu'elle permet le passage à l'âge adulte. Il s'agit d'une maladie liée à l'X récessive.

OBS. n° 239 - Mme PLA...

Nullipare.

La postulante a 5 frères atteints de la maladie tous vivants. On recherche alors la conductibilité de Mme PLA... par le dosage d'enzymes musculaires circulantes (créatinine phosphokinase et Aldolase).

Elle est conductrice et est avertie de la possibilité d'atteinte d'un garçon sur deux.

Ponction à 16 semaines, échec culture, reponction à 18 semaines.

Le caryotype est XY et une interruption de grossesse a été effectuée à 21 semaines.

2.3.2.2.5 - 1 SYNDROME ORO-FACIO-DIGITAL

Il en existe deux :

- . le type I ou syndrome de Papillon Léage Psaume décrit en 1954. Maladie liée à l'X dominante.
- . le type II ou syndrome de Mohr décrit en 1941, maladie liée à l'X récessive autosomique.

Vu leur mode de transmission génétique il est indispensable de bien les distinguer cliniquement (voir chapitre indication maladie liée à X).

Nous ne parlerons que du type I qui correspond à notre observation.

Les signes cliniques typiques de la maladie sont :

- 1/ frein entre muqueuse buccale et crête alvéolaire.
- 2/ fente partielle médiane de :
 - lèvre supérieure
 - langue
 - gencive.
- 3/ hypoplasie cartilage de l'aile du nez
- 4/ raccourcissement asymétrique des doigts avec Syndactylie.
- 5/ chevelure sèche
- 6/ retard mental

7/hypoplasie de l'émail dentaire.

OBS. n° 224 - Mme WIK...

Elle a eu 2 enfants :

- 1 prématuré décédé à 6 mois 1/2
- 1 enfant qui a vécu 18 mois et chez qui a été porté le diagnostic de syndrome oro-facio-digital de type Papillon Léage Psaume.

L'enquête génétique décèle que la postulante est conductrice après un examen clinique et paraclinique :

Elle a une incisure caractéristique de la langue, elle porte, bien que jeune, des dentiers, ce qui entraîne des radios et tomos de la face.

Elle est donc prévenue pour une prochaine grossesse :

- 1 fille sur deux sera atteinte sans qu'on puisse identifier la maladie in utero.
- 1 garçon sur 2 sera atteint mais le garçon malade ne donnera pas une grossesse évolutive (fausse couche), donc si c'est un garçon on ne propose rien et si la grossesse évolue c'est qu'il s'agit d'un garçon sain.

Ponction à 17 semaines : caryotype XX. La postulante a demandé une interruption de grossesse.

Dans le tableau n° 11, nous résumons chaque indication avec le type de diagnostic, le résultat de l'amniocentèse, la conséquence et la vérification de l'enfant en ce qui concerne les maladies autosomiques récessives et celles liées à l'X.

Sur 10 maladies diagnosticables spécifiquement, nous avons découvert 3 foetus atteints qui ont entraîné une interruption de grossesse. La vérification du foetus expulsé a chaque fois confirmé le diagnostic.

Des 4 maladies liées à l'X diagnosticables seulement par le sexe, nous trouvons 2 interruptions de grossesse ; une pour un garçon alors qu'il s'agissait d'une myopathie de Becker, une pour une fille alors qu'il s'agissait d'un syndrome oro-facio-digital.

Un cas un peu exceptionnel est celui de Mme VEL... n° 843 exposé dans son observation avec la myopathie de Duchenne.

MALADIE	Type du diagnostic	FOETUS	Interruption de grossesse	vérification de l'enfant	N°
HURLER	spécifique	NORMAL	—	NORMAL	151
HURLER	spécifique	ATTEINT	oui	—	?
HURLER	spécifique	ATTEINT	oui	—	249
POMPE	spécifique	NORMAL	—	NORMAL	157
MPS type VII	spécifique	NORMAL hétérozygote	—	NORMAL hétérozygote	274
LANDING	spécifique	NORMAL hétérozygote	—	NORMAL hétérozygote	275
MANNOSIDOSE	spécifique	ATTEINT	oui	—	200
LESH - NYHAN	spécifique	NORMAL	—	FCS	164
LESH - NYHAN	spécifique	NORMAL	—	NORMAL	208
MENKES	spécifique	NORMAL	—	NORMAL	211
MECKEL	AFP	NORMAL	—	NORMAL	774
DUCHENNE	Sexe	XX	—	XX SAINE	247
DUCHENNE	SEXE	XY	NON	XY SAIN	843
BECKER	Sexe	XY	oui	—	239
ORO-FACIO-DIGITAL I	Sexe	XX	oui	—	224

Tableau n° 11 - Indications, diagnostic et conséquences pour les maladies géniques (malformations du tube neural exceptées).

2.3.2.3 - MALFORMATIONS DU TUBE NEURAL

Il y en eut 28 réparties en 4 groupes :

2.3.2.3.1 - 12 ANTECEDENTS DE SPINA BIFIDA DANS LA FRATRIE.

Sur les 12, 5 couples seulement ont encore leur enfant vivant, les 7 autres sont décédés.

2.3.2.3.2 - 11 ANTECEDENTS D'ANENCEPHALIE DANS LA FRATRIE

2.3.2.3.3 - 1 MALFORMATION DU PROSENCEPHALE (n° 299)

Il s'agissait d'une holoprosencéphalie avec dysmorphie majeure de la face et des extrémités, chez le premier enfant. Cette malformation entre dans le cadre des dyoraphies du système nerveux central.

2.3.2.3.4 - 4 ANTECEDENTS DE SPINA FAMILIAL

- . 1 spina occulta découvert chez le mari accidentellement.
- . 2 femmes avaient une soeur porteuse d'un spina.
- . 1 des membres du couple appartenait à une famille de spina associé à Recklinghausen.

Sur les 24 cas d'antécédents de malformations du tube neural dans la "Fratrie", dans 17 cas il s'agissait d'un premier enfant chez un couple jeune.

MILUNSKY (112) (111) rapporte 2 495 recherches d'AFP en diagnostic prénatal dont les résultats seront exposés au chapitre sur l'AFP.

Dans notre travail, sur nos 28 recherches d'AFP, nous n'avons pas trouvé une seule anomalie (cf. AFP).

2.4 - INDICATIONS NON CLASSEES

Sur les 237 observations, il y a 6 indications qui n'entrent dans aucun des 3 premiers chapitres :

- . 3 auraient dû être réfutées ; elles ont été posées hors du groupe de travail (Croix-Rousse ; Hôpital-Dieu ; Debrousse).
 - 2 étaient des femmes de moins de 30 ans, secondipares, INQUIETES.
 - 1 était posée pour enfant né malformé avec agénésie des membres.
- . 1 indication est peu particulière : celle d'un couple dont le mari est traité aux antimitotiques pour mélanome malin.
- . 2 indications non approfondies.

3

AMNIOCENTESE PRECOCE

Dans ce chapitre nous aborderons l'amniocentèse avec tous les paramètres cliniques et paracliniques nécessaire à sa réalisation.

Nous séparerons cette étude en deux :

- l'échographie
- l'amniocentèse.

3.1 - ECHOGRAPHIE

3.1.1 - GENERALITES SUR LES TECHNIQUES

L'amniocentèse a été pratiquée dès 1950 avant l'utilisation de l'échographie et son application à la localisation placentaire (1966). Ces ponctions étaient tardives et l'obstétricien pouvait repérer manuellement le fœtus.

La pratique de l'amniocentèse précoce interdit les ponctions "aveugles" et l'échographie a pris là tout son intérêt évitant les dangers de l'amniocentèse du deuxième trimestre (164).

L'échographie dans la ponction amniotique précoce date de 1972 (33).

Plusieurs techniques échographiques sont utilisées :

3.1.1.1 - L'ECHOGRAPHIE DYNAMIQUE OU TEMPS REEL

qui permet de ponctionner sous écran et de suivre la progression de l'aiguille ainsi que le rythme cardiaque fœtal ou les mouvements fœtaux, mais ne permet d'obtenir une stérilisation parfaite du lieu de ponction que si la sonde est elle-même préalablement stérilisée. Cette technique n'est pas indispensable à une ponction mais est nécessaire à une foetoscopie".

3.1.1.2 - L'ECHOGRAPHIE B "STATIQUE"

qui peut être améliorée par l'utilisation d'un capteur spécial perforé en son centre. Après avoir repéré le lieu de ponction par un capteur habituel, on le remplace par un capteur perforé préalablement stérilisé par immersion (cidex) ou irradiation. Après avoir réalisé l'asepsie, un bras spécial le fixe en place, la ponction faite à travers le trou du capteur et le trajet de l'aiguille est repéré sur l'écho B ou l'écho A (36) (141).

Elle est employée pour la foetoscopie (165).

Cette technique s'inspire de la ponction rénale sous ultrasons (87).

Bang (4) publie 68 amniocentèses précoces par cette technique : 4 échecs.

3.1.1.3 - "L'ECHELLE DE GRIS"

améliore la précision du guidage. Picker (136) trace avec le capteur le lieu, la direction et la profondeur où doit se trouver l'aiguille. Sur 200 amniocentèses, il a seulement 3 échecs (1,5 %) et 7 % de ponctions sanglantes, mais il s'agit de ponction du troisième trimestre.

Dans notre étude nous avons utilisé le LAMINOGRAPHE de Picker et parfois un échographe de KRETZ, utilisant une sonde à balayage manuel. Dans de très rares cas une échographie en échelle de gris (3).

Une coupe transversale et sagittale effectuée à l'endroit optimum, à vessie pleine, visualise le lieu précis de la ponction par rapport au pubis, à la ligne médiane et à l'ombilic.

Une deuxième échographie faite immédiatement après évacuation vésicale permet de préciser les repères utérins par rapport à l'ombilic et au pubis en tenant compte du changement d'axe de l'utérus ou de la descente utérine provoquée par l'évacuation vésicale.

Par la superposition des deux clichés sagittaux on voit que les deux axes utérins coïncident rarement et que l'utérus s'abaisse de 3 à 4 cm par rapport à l'ombilic, ce qui pourrait fausser les repères de l'obstétricien. Nous repérons aussi l'axe de la cavité amniotique et sa forme habituellement arrondie mais parfois déjà aplatie d'avant en arrière, ce qui limite la profondeur de pénétration de l'aiguille. Pour mémoire nous rappelons que la croissance du sac embryonnaire a été étudiée par les ultrasons. Pour Levi (93) le diamètre moyen du sac embryonnaire à 12 semaines est de 5,6 cm. Sa croissance moyenne par semaine étant de 0,5 cm, on peut estimer qu'à 15 semaines le diamètre moyen de l'oeuf se situe autour de 8 cm. Son expérience porte sur 114 échogrammes, et ses résultats sont confirmés par ceux de JOUPILLA (80) et HOLLANDER (76).

L'échogramme du sac embryonnaire prend l'aspect d'un anneau que forment les échos des ultrasons réfléchis, soit par la membrane de la cavité coelomique extra embryonnaire soit par le trophoblaste. Les échos annulaires ont une netteté suffisante pour qu'on puisse les distinguer une semaine après l'implantation dans l'endomètre soit 4 semaines après les dernières règles (63).

En définitive :

- Si le placenta est antérieur et l'utérus très antéversé la ponction se fera dans l'axe de la cavité amniotique, pas trop en avant car on risque de rester dans le myomètre ou de toucher le placenta, pas trop en arrière pour ne pas sortir de la cavité amniotique.
- Si le placenta est postérieur, il faut connaître la profondeur et l'axe suivant lequel l'aiguille doit être introduite.

3.1.2 - INTERETS DE L'ECHOGRAPHIE AVANT PONCTION.

Pour Henrion (67) elle a 7 intérêts :

3.1.2.1 - LA MESURE DU BIPARIETAL

pour évaluer un terme échographique à confronter au terme anamnestique afin de ne pas faire l'amniocentèse avant 16 ou 17 semaines. Cet intérêt semble surtout évident pour les amniocentèses pratiquées pour âge maternel. En effet chez la femme après 38 ans, la hauteur utérine et l'allure des cycles menstruels sont souvent troublés par toute une pathologie utérine ou ovarienne (du myome à l'insuffisance endéale).

3.1.2.2 - APPRECIER LA VITALITE FOETALE

par les bruits du coeur afin de ne pas ponctionner un oeuf mort.

3.1.2.3 - FAIRE LE DIAGNOSTIC DE GEMELLITE

3.1.2.4 - LOCALISER LE PLACENTA

- topographie exacte antérieure, postérieure, latérale, fond, praevia.
- ses limites supérieures et inférieures.

3.1.2.5 - DETERMINER :

- le point de ponction
 - . par rapport au pubis en centimètres sus-pubiens.
 - . par rapport à la ligne médiane :
 - médian
 - paramédian gauche ou droit.
- l'orientation de l'aiguille par rapport à la paroi.
- la profondeur à laquelle on peut trouver le liquide amniotique.

3.1.2.6 - DECOUVRIR UN MYOME SOUS-MUQUEUX

3.1.2.7 - APPRECIER LE VOLUME DE LIQUIDE AMNIOTIQUE :

(si peu de liquide et gros placenta : différer la ponction).

3.1.3 - NOS RESULTATS SUR 193 CAS

Dans tous nos cas une échographie a été pratiquée.

- soit par Madame Le Docteur Roussille à l'hôpital Edouard Herriot à Lyon.
- soit par les Docteurs Naudin et Arnal, hôpital de la Croix-Rousse à Lyon.

Dans la majorité des cas, elle a été faite le même jour que l'amniocentèse.

Les échographistes ont recherché :

- dans tous les cas : soit 193 :
 - . la localisation placentaire avec détail précis du point où doit être faite la ponction et sous quel angle.
 - . la vitalité foetale par les bruits du coeur.
 - . la gemellité.
- dans 86 cas : une détermination du Bipariétal.
- dans 33 cas : une détermination de la profondeur conseillée pour la ponction.

Etude séparée des résultats :

3.1.3.1 - LOCALISATION PLACENTAIRE

Elle nous est connue précisément dans 164 cas (tableau n° 12).

Localisation placentaire	NOMBRE	POURCENTAGE
antérieure et antéro-latérale	75	45,7 %
postérieure	67	40,8 %
latérale	2	1,3 %
fundique	11	6,7 %
antérieure et fond	1	0,6 %
postérieure et fond	5	3 %
antérieure et postér.	2	1,3 %
praevia	1	0,6 %

Tableau n° 12 - Localisation placentaire pour 164 recherches échographiques.

Ces chiffres montrent que le nombre de placentas postérieurs et antérieurs est à peu près équivalent ; nous n'avons pas distingué les antérieurs vrais des antéro-latéraux. Le seul placenta praevia n'a pas perturbé la grossesse et a autorisé un accouchement par voie basse (n° 712).

3.1.3.2 - LA RECHERCHE DE VITALITE FOETALE

a été faite pour chaque cas, permettant d'éliminer 3 observations, la grossesse étant arrêtée.

3.1.3.3 - LA GEMELLITE EST RECHERCHEE DANS 164 CAS

Nous avons eu 3 observations de grossesse gémellaire mais l'échographie n'en a diagnostiqué qu'une ; d'où le grand intérêt qu'il y aurait à posséder un échographe en temps réel (94).

Deux ont échappé aux ultrasons (n° 198 - 209).

- La 1ère a été découverte à 34 semaines et la patiente a été césariée pour présentations transversale.
- La 2ème a été découverte lors d'une rupture prématurée des membranes à 27 semaines qui a entraîné un accouchement prématuré de jumeaux décédés néonataux.

La troisième observation (n° 825) est une gémellaire diagnostiquée par échographie lors d'une amniocentèse pour spina bifida familial et donc recherche de l'alpha foeto protéine. Il a donc fallu ponctionner les 2 sacs ovulaires (voir technique spéciale au chapitre sur amniocentèse et technique). Cette patiente a fait une menace d'accouchement prématuré à 33 semaines, et des signes de souffrance foetale ont entraîné une césarienne ; une des jumelles est décédée le lendemain.

3.1.3.4 - LE BIPARIETAL A ETE CALCULE DANS 86 CAS.

2 fois en 1975
20 fois en 1976
64 fois en 1977

Sur les 86 cas les échographies ont été pratiquées :

1 fois à 15 semaines	
20 fois à 16	"
43 fois à 17	"
11 fois à 18	"
3 fois à 19	"
3 fois à 20	"
2 fois à 21	"
1 fois à 23	"

Les calculs des bipariétaux aux différents âges gestationnels ont donné :

- à 15 semaines : 24 mm : sans valeur.
- à 16 semaines : Les variations ont été trouvées de 22 à 41 millimètres avec une moyenne de 32,7 mm, valeur correspondant à celle acceptée par toutes les tables de bipariétaux.

Les chiffres les plus extrêmes soit : 22,24 et 41 mm sont des bipariétaux de parturientes âgées (2 femmes de 41 ans, 1 femme de 42 ans).

- à 17 semaines : les variations se font de 31 à 45 mm avec une moyenne à 36,8 mm, valeur aussi correspondante (tableau n° 13).

Dans cette tranche d'âge, la différence ne peut être expliquée par l'âge maternel élevé.

- à 18 semaines : les variations se font de 28 à 43 mm avec une moyenne à 36,1 mm, donc inférieure à celle de 17 semaines et à celle des tables.

Comme explication on peut invoquer :

- . le moindre nombre de cas : 11.
- . l'âge des patientes présentant les bipariétaux les plus bas (28, 31, 31) qui était respectivement de 46, 40 et 39 ans.

Ces résultats prouvent la discordance qui peut exister entre l'âge échographique et l'âge anamnétique. Il faut très certainement accorder une grande attention au calcul du bipariétal chez les parturientes âgées beaucoup plus fidèle sur l'âge gestationnel que l'examen clinique ou la date des dernières règles.

En pratique, à la Clinique obstétricale, on considère qu'à 17 semaines les bipariétaux doivent être situés entre 34 et 37 mm et si les mesures sont nettement inférieures nous pensons qu'il est préférable de différer la ponction.

3.1.3.5 - LA PROFONDEUR POUR PONCTION

Elle nous a été indiquée dans 33 cas.

Nous comparerons les chiffres proposés par l'échographe à ceux trouvés par l'obstétricien lors de la ponction :

Sur 33 cas :

- 8 mesures furent "concordantes" soit : 24 %
- 2 mesures furent "surestimées" par l'échographie de 0,5 à 1 cm.
- 23 mesures furent "sous-estimées" par l'échographie soit : 69 % :
 - . de 0,5 cm : 3 fois
 - . de 1 cm : 7 fois
 - . de 1,5 cm : 5 fois
 - . de 2 cm : 1 fois
 - . de 2,5 cm : 1 fois
 - . de 3 cm : 5 fois
 - . de 3,5 cm : 1 fois.

Ainsi, sur nos 33 cas :

- . 20 fois l'erreur échographique a été égale ou supérieure à 1 cm soit 60 %.

AGE GESTATION REEL	VALEURS MOYENNES DU DIAMETRE BIPARIETAL	ECART MOYEN
13	20	18/23
14	24	21/27
15	28	25/31
16	32	29/35
17	36	33/39
18	39	37/42
19	42	39/45
20	45	42/48
21	48	45/51
22	51	48/54
23	54	51/57
24	57	54/60
25	60	57/63
26	63	60/66
27	66	63/69
28	69	66/72
29	72	69/75
30	75	72/78
31	78	75/81
32	80	77/83
33	82	79/85
34	84	81/87
35	86	83/89
36	88	85/91
37	89	88/92
38	90	87/93
39	91	88/94
40	92	89/95
41	93	90/96
42	94	91/97
43	94	91/97
44	94	91/97

Tableau n° 13 - Diamètre bipariétal et âge gestationnel.

. 8 fois l'erreur a été égale ou supérieure à 2 cm : soit 24 %.

En conclusion sur ce chapitre d'échographie, il faut admettre et ce sans réserve qu'il n'y a pas d'amniocentèse précoce sans examen échographique ; examen qui, si il est pratiqué par un spécialiste sera le garant d'une bonne technique et par voie de conséquence d'une ponction non dangereuse. Son innocuité est certaine bien que ROBINSON (145) ait accusé les ultrasons de diminuer la pousse cellulaire. Les travaux ultérieurs de MISKIN et DORAN (146) (36) ont infirmé cette hypothèse.

Le principal inconvénient de cette technique étant d'obtenir un appareil onéreux à l'achat mais surtout d'avoir un opérateur confirmé.

L'échographie permet :

- d'éviter l'aire placentaire et de diminuer le nombre de ponctions sanglantes.
- de réduire le nombre d'échecs complets de ponction : ponction blanche.
- de diminuer le passage transplacentaire des hématies foetales ; c'est le risque le plus important chez les femmes Rhésus négatif (cf. test de Kleihauer).

Henrion (65) met en évidence un passage transplacentaire.

- 7 fois sur 33 en cas de placenta antérieur.
- 6 fois sur 47 en cas de placenta postérieur

Harrisson prouve un passage d'érythrocytes foetaux :

- dans 23 % des cas sans utiliser l'échographie.
- dans 15 % des cas avec échographie.

3.2 - L'AMNIOCENTESE

Avant le jour de la ponction par l'obstétricien à la clinique obstétricale de la Croix-Rousse, un premier contact a lieu avec la patiente à la 12ème semaine d'aménorrhée pour :

- un premier examen clinique
- une discussion des problèmes purement obstétricaux (antécédents).
- groupage sanguin avec détermination du groupe Rhésus.
- détermination de la date précise de la ponction après accord avec le laboratoire.

Ce chapitre discutera trois points :

- . l'âge gestationnel en semaines d'aménorrhée, auquel doit être faite la ponction.
- . la mesure de la hauteur utérine.
- . l'amniocentèse proprement dite.

3.2.1 - QUAND FAIRE LA PONCTION ?

La décision de la date de la ponction amniotique précoce tient compte de deux éléments :

3.2.1.1 - Le volume de liquide amniotique

Les premières évaluations ont été faites en 1927 par ZANGMEISTER (174), puis par DIECKMAN (35) en 1933 utilisant des méthodes de dilution de rouge congo. C'est principalement FUCHS en 1966 (45) qui publie la valeur des volumes amniotiques en fonction de l'âge gestationnel pour des grossesses de 10 à 20 semaines à partir de 45 observations.

Ces déterminations ont été effectuées sur des femmes qui nécessitaient un avortement thérapeutique avec stérilisation tubaire ; il a pratiqué des laparotomies puis hystérotomie avec recueil de l'oeuf entier et calcul précis des volumes.

PLENTL (137) en 1966 publie le volume à 20 semaines, puis NELSON (119) en 1972 avec 162 cas, GUEENAN (140) en 1972 et ABRAMOVITH (1) en 1973.

Nous avons récapitulé les chiffres donnés par ces auteurs sur le tableau n° 14.

VOLUME DU LIQUIDE AMNIOTIQUE (en millilitres)				
Ans	AUTEURS	15 semaines	16 semaines	20 semaines
66	FUCHS	115 à 245 m = 164	208 à 285 m = 231	m = 375
66	PLENTL	—	—	m = 350
72	QUEENAN	—	m = 239	—
72	NELSON	m = 143,7 DS = 75,7	m = 207,2 DS = 92,3	m = 365 DS = 87,8
73	ABRAMOVITH	m = 130	m = 171	—

Tableau n° 14 - Volume de liquide amniotique en fonction de l'âge gestationnel.

Après analyse de ces résultats à peu près concordants, une ponction peut être envisagée à partir de 15 semaines, période à laquelle les volumes sont variables de 130 à 164 ou à 16 semaines avec des volumes de 171 à 239. Cette date est d'autant plus acceptable que le renouvellement de liquide amniotique à 15 semaines est très rapide, de l'ordre de 30 à 50 ml par jour (1).

3.2.1.2 - L'analyse des cellules

Dans le liquide amniotique recueilli l'important pour la culture cellulaire est le nombre de cellules par millimètre cube. Vers 15 semaines ce nombre est de 10^3 à 10^5 d'après HOEHN (75) pouvant faire espérer une bonne pousse. D'après notre expérience (cf. culture de cellules) il semble plus bénéfique d'attendre 17 semaines pour augmenter le nombre de cellules et améliorer le temps de réponse de la pousse cellulaire.

L'analyse de nos observations en fonction de l'âge gestationnel en semaines pour les 3 années 1975 - 1976 - 1977 est récapitulée dans le tableau n° 15.

Cette analyse porte sur 219 cas.

Age en semaines	Nombre en 1975	Nombre en 1976	Nombre en 1977
14	1	1	1
15	6	4	1
16	14	51	11
17	3	15	60
18	4	2	25
19	1	-	7
20	-	1	5
21	-	1	2
22	-	-	2
23	-	1	-
Nbre total	29	76	114

Tableau n° 15 - Répartition du nombre d'amniocentèses pratiquées en fonction de l'année et de l'âge gestationnel.

Ces chiffres montrent l'évolution que la clinique obstétricale a suivi sur ces 3 ans :

- dans les deux premières années 75 et 76, le pourcentage de ponction pratiquée à 16 semaines ou avant est respectivement de 72 et 73 %.
- dans l'année 77 où le nombre de ponction est supérieur aux deux précédentes réunies, le pourcentage d'amniocentèse à 16 semaines ou avant n'est que de 19 %. La majorité des ponctions ayant été effectuée à 17 et 18 semaines.

Nous préférons donc actuellement effectuer la ponction précoce à 17 semaines révolues d'aménorrhée.

3.2.2 - LE CALCUL DE LA HAUTEUR UTERINE

Cette mesure est faite systématiquement au décours de l'examen clinique.

De nos 237 observations nous avons les chiffres de hauteur utérine pour 163 cas. Vu la concentration maximum des cas (142 sur 163) dans les tranches d'âge gestationnel 16, 17, 18 semaines, nous limiterons notre étude à ces 3 âges.

Nous avons essayé d'évaluer :

- . la moyenne de la hauteur utérine pour une tranche d'âge.
- . la différence, si elle existe, entre les hauteurs utérines des femmes de moins et de plus de 37 ans dans chaque tranche.

3.2.2.1 - Moyenne par tranche d'âge

Les valeurs trouvées sont résumées dans le tableau n° 16.

Semaine d'aménorrhée	Nombre de cas	Valeur MINI	Valeur MAXI	Moyenne en centimètres
16	60	10	17	13,2
17	63	11	19	14,5
18	19	12	20	15,4

Tableau n° 16 - Valeur de la hauteur utérine en centimètre en fonction de l'âge gestationnel.

3.2.2.2 - Différence des hauteurs utérines des femmes de plus ou moins de 37 ans.

L'âge de 37 ans a été pris arbitrairement.

3.2.2.2.1 - A 16 SEMAINES

60 femmes dont : $\begin{cases} 32 < 37 \text{ ans} \\ 28 > 37 \text{ ans} \end{cases}$

La moyenne des hauteurs utérines :

< 37 ans = 12,8 cm
> 37 ans = 13,7 cm

3.2.2.2.2 - A 17 SEMAINES

63 femmes dont : 34 < 37 ans
29 > 37 ans

La moyenne des hauteurs utérines :

< 37 ans = 14,7 cm
> 37 ans = 14,2 cm

3.2.2.2.3 - A 18 SEMAINES

18 femmes dont : 5 < 37 ans
13 > 37 ans

La moyenne des hauteurs utérines :

< 37 ans = 15,2 cm
> 37 ans = 15,3 cm

Ces résultats sont colligés dans le tableau n° 17.

Age en semaine	Nombre de cas	Moyenne de la hauteur utérine femme < 37 ans	Moyenne de la hauteur utérine femme > 37 ans
16	60 $\begin{matrix} \nearrow 32 \\ \searrow 28 \end{matrix}$	12,8	13,7
17	63 $\begin{matrix} \nearrow 34 \\ \searrow 29 \end{matrix}$	14,7	14,2
18	18 $\begin{matrix} \nearrow 5 \\ \searrow 13 \end{matrix}$	15,2	15,3

Tableau n° 17 - Relation hauteur utérine et âge gestationnel comparant 2 lots de femmes avant et après 37 ans.

Par cette étude nous pensions trouver une différence significative entre les utérus des parturientes jeunes par rapport aux plus âgées ; en fait les chiffres à âge gestationnel égal sont concordants.

3.2.3 - AMNIOCENTESE PROPREMENT DITE

L'indication a été posée soit avant le début de la grossesse en cours, soit au cours des premières semaines d'aménorrhée.

La consultante, déjà vue à 12 semaines, est reconvoquée à 17 semaines d'aménorrhée pour la ponction.

Dans les premières années de notre expérience les femmes habitant extra-muros de Lyon entraient dans le service la veille de la ponction. Actuellement, elles viennent le jour même de l'acte.

3.2.3.1 - CONTROLES EFFECTUES AVANT L'AMNIOCENTESE :

3.2.3.1.1 - ECHOGRAPHIE :

pratiquée dans l'heure qui précède.

3.2.3.1.2 - TEST DE KLEIHauer

dans le sang maternel si elle est rhésus négatif.

3.2.3.1.3 - RECHERCHE DES BRUITS DU COEUR FOETAL

dans les minutes qui précèdent par appareil à ultrasons.

3.2.3.1.4 - DERNIER EXAMEN CLINIQUE

pour noter :

- . la hauteur utérine
- . le toucher vaginal apprécie l'orientation du grand axe de l'utérus.
- . la palpation abdominale renseigne sur l'anté- ou rétroflexion.

3.2.3.1.5 - ON FAIT URINER LA PATIENTE AVANT PONCTION

3.2.3.2 - LA TECHNIQUE

Elle est réalisée avec une asepsie chirurgicale : badigeonnage au merfène d'une large surface abdominale, mise en place d'un petit champ fendu par un opé-

rateur muni de gants stériles.

Repérage du point de ponction avec les données très précises de l'échographie ; ce point est recherché en hauteur sus-pubienne et en latéralité paramédiane (figure n° 1).

Deux cas sont un peu particuliers :

3.2.3.2.1 - Le placenta antérieur :

S'il recouvre totalement la face antérieure, deux possibilités :

- la plus élémentaire est celle d'HENRION que nous avons utilisée quelquefois : ponction transplacentaire.
- la deuxième, si la topographie le permet, est de piquer avec une orientation et en un point donné par l'échographie sur le fond utérin.

3.2.3.2.2 - Utérus très antéversé :

Si le placenta est postérieur (figure n° 2) la figure montre que :

- l'aiguille n° 1 a une inclinaison qui conviendrait parfaitement à un utérus en position intermédiaire, alors que dans ce cas elle blessera le placenta.
- l'aiguille n° 2 est trop tangentielle.
- la seule valable est la n° 3.

On pratique alors une anesthésie locale à la xylocaïne à 1 % par une boutonnière sous-cutanée faite avec environ 2 millilitres de produit.

Le trocard utilisé est celui des ponctions lombaires muni d'un mandrin (diamètre : 1,2 mm ; longueur : 9 ou 11 cm).

L'aiguille est alors enfoncée, suivant une orientation proposée par l'échographe, traversant les différents plans avec leur consistance propre appréciable par les doigts d'un opérateur expérimenté : la peau, l'aponévrose très dure, le muscle (si on pique en paramédian), puis le myomètre et enfin la sensation de résistance disparaît correspondant à la pénétration de l'aiguille dans la cavité amniotique. On retire alors le mandrin pour brancher une seringue qui permet de ramener 20 à 30 ml de liquide, immédiatement recueillis dans un tube plastique spécialement fourni par le laboratoire de culture cellulaire.

L'aiguille est alors retirée, suivie d'une nouvelle asepsie. Le tube est maintenu à température ambiante et adressé dans les délais les plus brefs au laboratoire.

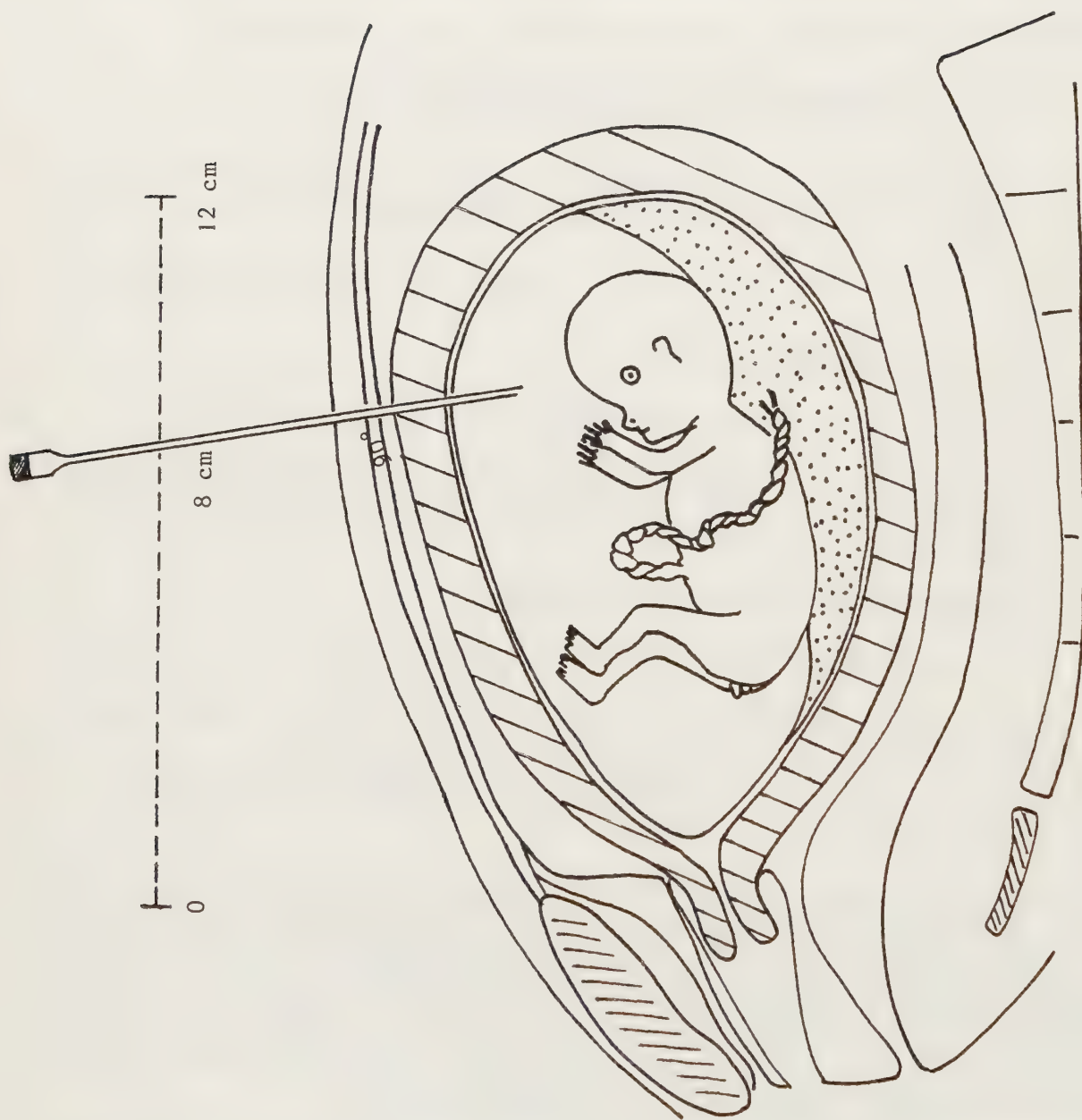


Figure n° 1 - Technique de l'amniocentèse précoce.



Figure n° 2 - Différents échecs de ponction si on ne tient pas compte de l'orientation de l'utérus en cas de placenta postérieur ; seule l'aiguille n° 3 sur un utérus antéversé sera intra-amniotique.

3.2.3.3 - TECHNIQUE EN CAS DE GROSSESSE GEMELLAIRE

Si une gémellité a été diagnostiquée à l'échographie, le geste de ponction nécessite une technique très spécialisée. Pour la décrire, nous relatons l'observation de Madame ROS... (n° 825). Il s'agissait d'un diagnostic anténatal pour spina bifida familial avec recherche de l'alpha foeto protéine dans les deux sacs ovulaires.

Après repérage échographique, une première ponction d'emblée réussie permet de retirer 30 ml de liquide clair. On remplace la quantité de liquide retiré par 0,5 ml de rouge congo à 10 %. Après injection on réaspire quelques millilitres pour s'assurer que le colorant s'est bien homogénéisé dans le liquide de la première poche. Dans un deuxième temps avec l'aide de l'échographie et du repérage du deuxième foyer de bruits cardiaques, on a reponctionné et obtenu un liquide clair, preuve que nous avons recueilli le liquide de la deuxième poche. L'analyse spectrophotométrique confirme qu'il s'agit bien du liquide de la seconde cavité amniotique.

3.2.3.4 - APRES LA PONCTION

- recherche des bruits du coeur foetal aux ultrasons.
- une heure ou deux de repos dans un lit.
- prise d'un antispasmodique banal ou bétamimétique (suppositoire de Salbutamol).
- test de KLEIHAUER chez la mère si :
 - . elle est rhésus négatif afin de contrôler par comparaison avec le premier s'il y a eu ou non hémorragie foeto-maternelle.
- injection systématique de 85 µgr de gammaglobulines anti D par voie veineuse chez les femmes rhésus négatif.
- La femme rentre alors chez elle même loin extra muros, avec un arrêt de travail de 24 heures.

4

DONNEES DE L'AMNIOCENTESE

A partir du liquide amniotique obtenu après ponction nous pratiquons trois groupes d'étude :

- celle sur le surnageant
- celle sur les cellules non cultivées
- celle sur les cellules cultivées.

A la clinique obstétricale de la Croix-Rousse pour tout diagnostic anténatal le liquide amniotique est adressé systématiquement dans deux laboratoires :

- celui de Biochimie (S. GUIBAUD), où se fait :
 - . l'étude biochimique sur le surnageant.
 - . l'étude cytologique des cellules non cultivées.
- celui de culture cellulaire (M. MATHIEU, M.T. ZABOT à l'hôpital Debrousse, service du Professeur COTTE) où est pratiquée la mise en culture.

Lorsque la pousse est suffisante, elle peut être adressée :

- soit pour le caryotype au laboratoire de cytogénétique à l'Institut Pasteur (Docteur C. LAURENT).
- soit pour les études enzymatiques au laboratoire d'Enzymologie (Professeur COTTE) travaillant en liaison avec les laboratoires européens et Nord-Américain.

4.1 - ETUDE DU SURNAGEANT

Trois types d'analyses sont faites et les résultats exprimés en unités du système international en vigueur à partir de 1979 et en système actuel.

4.1.1 - IONOGRAMME

Nous ne détaillerons pas ici les valeurs des constituants, mesurés dans le liquide amniotique. L'intérêt de la pratique systématique du ionogramme a été démontré dans un cas où les résultats ont mis en évidence qu'il ne s'agissait pas d'un échantillon amniotique mais d'URINE maternelle.

4.1.2 - PROTEINES TOTALES, GLUCOSE, CREATININE

4.1.2.1 - PROTEINES TOTALES

Leur taux augmente dans le liquide amniotique progressivement jusqu'à 25 semaines pour ensuite décroître jusqu'à terme. Les protéines sont indispensables pour l'interprétation du taux d'Alpha foeto protéine (AFP).

Leur valeur séméiologique apparaît dans deux situations :

- un taux de protéines totales normal associé à un taux d'AFP élevé est en faveur d'une malformation foetale.
- un taux de protéines totales augmenté associé à un taux d'AFP pathologique est plutôt en faveur d'une souffrance foetale (voir synthèse d'AFP).

Dans notre travail, les protéines totales ont été dosées systématiquement du moins pour les observations de la maternité de la Croix-Rousse.

La moyenne plus ou moins un écart type des valeurs trouvées sur 147 cas de ponction entre 16 et 18 semaines d'aménorrhée est de :

$$m = 6,02 \text{ grammes/litre} \pm 2,10 \text{ gr/l.}$$

4.1.2.2 - LE GLUCOSE

Il s'agit du glucose vrai dosé par une technique automatique à la "glucose-oxydase". Il est dosé à titre systématique. Sa valeur décroît progressivement dans le liquide amniotique au cours de la grossesse.

Des études comparatives ont été faites entre grossesse normale et anencéphalie. Pettit (135) a montré que le taux de glucose est plus bas à âge gestationnel égal dans les anencéphalies que dans les grossesses normales (diabétiques exclues). S. Guibaud (59) confirme ces résultats dans des cas de grossesses tardives :

Deux lots de femmes à deux périodes distinctes de gestation ont été étudiées :

. Parturientes à grossesse normale :

- 10 entre 26 et 35 semaines.
- 10 entre 36 et 43 semaines.

. Parturientes avec anencéphalie :

- 6 entre 26 et 35 semaines
- 2 entre 36 et 43 semaines.

Les résultats sont exprimés dans le tableau n° 18.

GROSSESSE	Semaines d' d'aménorrhée	Nombre	Taux de GLUCOSE en mmol/l Moyenne Ecart-type
NORMALE	26 - 35	10	2,21 $\pm$ 0,64
	36 - 43	10	1,96 $\pm$ 0,48
ANENCEPHALIE	26 - 35	6	0,91 $\pm$ 0,42
	36 - 43	2	1,02

Tableau n° 18 - Taux de glucose en mmol/l dans le liquide amniotique à âge gestationnel égal entre grossesse normale et anencéphalie.

Bien que les échantillons soient peu nombreux, on note un net abaissement du taux du glucose dans les anencéphalies. La différence est statistiquement significative.

Le dosage du glucose semble donc intéressant à effectuer systématiquement dans la mesure où il peut servir d'examen complémentaire dans le diagnostic indirect des malformations du tube neural aidant à l'interprétation du taux d'AFP.

La moyenne plus ou moins un écart-type des taux de glucose dans le liquide amniotique pour des grossesses de 16 - 17 - 18 semaines d'aménorrhée, sur 135 dosages a été trouvée de :

soit $2,99 \text{ mmol/l} \pm 0,88 \text{ mmol.}$
 $0,54 \text{ gr/l} \pm 0,16 \text{ gr/l.}$

4.1.2.3 - LA CREATININE

Dosée aussi systématiquement, sa valeur moyenne plus ou moins un écart-

type pour les grossesses de 16 - 17 - 18 semaines est de :

soit $73,4 \mu\text{mol/l} \pm 11,9 \mu\text{mol/l}$
 $8,30 \text{ mg/l} \pm 1,35 \text{ mg/l}.$

4.1.3 - ALPHA FOETO PROTEINES (AFP)

C'est en elle que réside le principal intérêt de l'étude biochimique du surnageant. Elle est l'un des éléments indirects des diagnostics anténataux et par ce fait nous lui avons réservé une étude approfondie.

Elle fut décrite en 1944 par PEDERSEN (132) dans le sérum du nouveau-né sous le nom de FETUINE. En 1964, TATARINOV et NISHI (124) montrent une corrélation entre Fetuine et cancer primitif du foie.

C'est en 1970 que l'"International agency for research on cancer" adopte le terme d'Alpha foeto protéine.

4.1.3.1 - GENERALITES SUR L'AFP

4.1.3.1.1 - NATURE :

L'AFP est une alphaglobuline dont la structure chimique est celle d'une glycoprotéine.

- la partie protéique est formée d'une seule chaîne polypeptidique dont on connaît les acides aminés mais pas la séquence.
- la partie glucidique est composée d'Hexoses, Hexasamine et acide sialique.

4.1.3.1.2 - SYNTHESE :

Elle se fait :

- dans le foie foetal, où elle est maximum entre la 10^e et la 20^e semaine.
- dans le sac vitellin.
- au niveau du placenta.
- accessoirement et inconstamment dans le tissu foetal gastro-intestinal.

Elle débute dès le 29^e jour de la vie embryonnaire. Les taux sériques d'AFP vont croissant jusqu'à la 14^e semaine, période à laquelle s'amorce une courbe de descente brutale jusqu'au terme et qui se poursuit même après la naissance, puisque les taux sériques à 2 ans sont les 1/20 000^e des taux dans les premiers

jours de la vie. Dès lors ils resteront stables jusqu'à la mort.

Chez l'adulte les taux sont bas ; chez la femme enceinte, pendant le premier trimestre ils ne varient pas de façon sensible (contrairement à ce que SEPPALA (152) a publié), ils augmentent légèrement à partir de 16 semaines jusqu'à la fin de la gestation.

L'AFP maternelle serait d'origine foetale et le taux de transfert foeto-maternel a été quantifié par GITLIN (50).

Les premiers dosages d'AFP dans le liquide amniotique ont été faits en 1966 par Gitlin et Boesmann (51). Sa source principale est l'urine foetale car, comme l'albumine dont elle a à peu près le poids moléculaire, l'AFP est filtrée par le glomérule et partiellement réabsorbée (52) (153) au niveau des tubules.

Weiss en 1976 confirme ces données en montrant que les courbes d'AFP dans le liquide amniotique et les urines foetales sont parallèles (172). Les taux d'AFP sont maxima dans le liquide amniotique à la 15^e semaine. De façon générale, il existe une relation entre le taux d'AFP du liquide amniotique et celui du sérum maternel au cours de la grossesse ; cette notion a été mise en application par certains auteurs pour faire un diagnostic anténatal des maladies exprimées par une élévation d'AFP, non par l'amniocentèse mais par une simple prise de sang maternel (quelques désillusions furent apportées par cette méthode).

Dans le liquide amniotique, l'AFP ne représente que 0,5 % des protéines totales ; son origine est foetale alors que ces dernières sont maternelles et détruites chaque jour à 60 % par absorption et digestion foetale.

Si bien qu'une augmentation de concentration protéique pourra être le reflet d'une altération physiologique du fœtus (cf : paragraphe sur le dosage des protéines).

4.1.3.1.3 - FONCTION DE L'AFP

Aucune fonction véritablement spécifique ne lui a été reconnue jusqu'ici. On lui prête trois rôles :

- . Protéine de liaison avec les oestrogènes.

Ceci a été démontré expérimentalement chez la souris et le rat par NUNEZ (125) et URIEL (167). Cette liaison est si forte qu'elle a été utilisée à la recherche des sites de production de l'AFP par les oestrogènes marqués.

Donc l'AFP EST-ELLE un transporteur de cette hormone et intervient-elle dans les relations foeto-maternelles transplacentaires.

- . L'AFP serait une forme foetale de l'albumine (51).

- . L'AFP aurait un "rôle immunorégulateur" pendant la grossesse.

Toutes les expérimentations ont été faites chez l'animal et la conclusion ci-après n'est qu'hypothèse. Elle aurait donc une action immunorégulatrice dans le développement foetal normal, une action protectrice contre les agressions immunologiques en début de grossesse et dans des circonstances pathologiques comme : toxémie, immunisa-

tion anti-rhésus, qui s'accompagnent d'anomalies immunologiques.

4.1.3.1.4 - METHODES DE DOSAGE

De nombreuses méthodes ont été et sont utilisées. Elles ont toutes leur intérêt mais ne permettent pas toutes d'obtenir des résultats exacts et précis. En effet les problèmes techniques sont différents (problèmes de limites de sensibilité) selon qu'il s'agit de doser l'AFP dans un cas d'hépatome ou dans un cas d'anomalie du tube neural au deuxième trimestre de gestation.

Nous nous bornerons à citer les diverses techniques utilisées avec quelques références :

- Electrophorèse sur papier.
- Immunoélectrophorèse.
- Double immunodiffusion ou technique d'OUCHTERLONY (130).
- Immunodiffusion radiale simple de MANCINI (104).
- Electro-immunodiffusion de LAURELL (91).
- Immunoélectro-osmophorèse ou contre immuno électrophorèse décrite par KOHN (86).
- Dosage enzymo-immunologique.
- Hémagglutination passive (127).
- Test au latex.
- Dosage radio-immunologique (mise au point par RUOSLATHI et SEPPALA en 1971) (146).

4.1.3.1.5 - INTERET DU DOSAGE D'AFP DANS LES AMNIOCENTESES PRECOCES

Son dosage permet un diagnostic indirect de plusieurs malformations fœtales. Elle n'est spécifique pour aucune mais son élévation anormale est constante quand elles existent.

4.1.3.1.5.1 - Les anomalies du Tube Neural.

On distingue :

4.1.3.1.5.1.1 - Les lésions ouvertes : Anencéphalie et Spina bifida ouvert.

C'est à BROCK et SUTCLIFE (20) que revient le mérite d'avoir fait de l'AFP un "marqueur" de ces anomalies. A la suite de leur rapport original, les publications se sont multipliées (97) (150) (121) (110) s'accordant à donner des valeurs

d'AFP dans le liquide amniotique pour les malformations du système nerveux central, avant 25 semaines d'aménorrhée.

Les résultats chiffrés n'ont de valeur qu'en rapport avec la technique utilisée par le laboratoire ; mais de façon générale des taux 6 à 10 fois supérieurs aux valeurs habituellement rencontrées correspondent à des cas pathologiques.

D'autres études sur l'AFP ont prouvé que si ce moyen diagnostic n'était fiable qu'avant 26 semaines, il devenait d'interprétation plus délicate au-delà. BROCK (20), HARRIS (62) et WEISS (172) publient des cas de malformations du tube neural avec AFP normale après 26 semaines.

Des hypothèses physiopathologiques ont été élaborées :

- l'absence de barrière entre le liquide céphalo-rachidien et le liquide amniotique peut expliquer cette augmentation en raison de la différence de concentration.
- Dans 2/3 des cas d'anencéphalie il y a une destruction anormale de l'AFP par le processus d'absorption et de digestion.

4.1.3.1.5.1.2 - Les lésions fermées :

Elles ne représentent que 5 à 10 % de toutes ces anomalies. Elles échappent au diagnostic prénatal par le dosage de l'AFP.

4.1.3.1.5.2 - Les autres anomalies foetales :

D'autres malformations peuvent bénéficier du diagnostic anténatal par le dosage de l'AFP.

4.1.3.1.5.2.1 - Anomalies rénales :

- syndrome néphrotique congénital ou Finlandais (cf. : chapitre des indications pour maladie génique).
- reins polykystiques.

4.1.3.1.5.2.2 - Syndrome de Meckel

(cf. : indication maladie génique).

4.1.3.1.5.2.3 - Omphalocèle :

(cf. : indication avec diagnostic biochimique spécifique et nos résultats sur l'AFP).

4.1.3.1.5.2.4 - Nous ne ferons que citer : les "Anomalies digestives"
telles que : atrésie oesophagienne ou sténose duodénale.

Dans ces malformations des taux anormaux d'AFP (151) (170) ont été retrouvés ; mais jusqu'ici aucune élévation du taux d'AFP dans le liquide amniotique n'a pu être rapportée à une malformation digestive dont le diagnostic anténatal aurait ainsi été permis. L'élévation du taux d'AFP de ce type de malformation serait due à des régurgitations gastriques.

4.1.3.1.6 - LES LIMITES DE L'AFP

Combet (30) en fait une étude détaillée, rapportant par ses observations et celles de la littérature que le nombre de "faux positifs" doit être nettement inférieur à 1 %.

MILUNSKY (112) sur 3 536 dosages compte 26 faux positifs soit 0,7 % et BROCK sur 997 en a aucun.

Les "faux négatifs" sont exceptionnels en cas de lésions du tube neural ouvertes bien que FIELD (44) en rapporte 1 cas.

4.1.3.2 - RESULTATS

Le dosage d'AFP a été fait systématiquement dans le cas de toutes les amniocentèses précoces pratiquées à la clinique obstétricale de la Croix-Rousse, quelle que soit l'indication.

Le liquide amniotique est centrifugé, filtré et le surnageant est analysé immédiatement ou conservé au congélateur à - 30° C.

Les liquides hémorragiques donnent lieu à un test de Kleihauer afin d'éliminer les liquides contaminés par du sang foetal qui fausseraient les dosages.

Deux méthodes de dosage sont utilisées :

- . Immuno diffusion radiale simple (seuil de sensibilité : > 10 000 ngr/ml)
La détection de l'AFP est réalisée avec :

- des plaques prêtes à l'emploi.
- un sérum étalon BEHRINGWERKE.
- un sérum de référence fourni par le docteur SIZARET du centre international du cancer de Lyon.

Cette technique utilise 5 microlitres de liquide, et la lecture de la diffusion de l'antigène dans la gélose s'effectue au bout de 48 heures.

- . Electro-immunodiffusion de LAURELL (seuil de sensibilité > 600 ng/ml).

Les données chiffrées des dosages ne peuvent être comparées à celles d'autres laboratoires, car il n'existe pas de valeurs de référence ni régionale, ni nationale, ni internationale. Le laboratoire a établi ses propres valeurs de référence en effectuant un certain nombre de dosage d'AFP du liquide amniotique au cours

de grossesses normales ; et nous considérons comme pathologiques les taux supérieurs à ceux obtenus dans ces cas. Dans la thèse de Combet en 1976 (30) sur 94 échantillons prélevés entre 13 et 20 semaines, des taux moyens ont été établis, que nous comparerons aux nôtres puisqu dosés par le même laboratoire. (tableau n° 19).

Age en semaine	Taux en ngr / ml			Nombre d'échantillons
	Moyenne	Limites supérieures et inférieures	Ecart-type	
13	30 000	-	-	1
14	17 300	11 000 22 000	-	3
15	25 700	8 000 38 000	-	11
16	27 800	14 000 48 000	-	41
17	23 200	16 000 35 000	-	13
18	21 300	9 500 38 000	-	14
19	19 300	10 000 28 000	-	9
20	19 500	19 000 20 000	-	2

Tableau n° 19 - Taux en ngr/ml de l'AFP dans le liquide amniotique en fonction de l'âge gestationnel (thèse Combet).

On observe que le taux moyen le plus élevé est obtenu à 16 semaines de grossesse (28 200 ng/ml), et à cette période la valeur maximum rencontrée a été de 48 000 ng/ml.

Dans notre expérience :

- nous avons 180 dosages, et pas un seul taux pathologique alors que nous avons 28 indications pour malformation du tube neural.

- nous résumons sur un tableau (n° 20) nos dosages en fonction de l'âge gestationnel (diagramme n° 4).

Age en semaine	Taux en ngr / ml			Nombre de dosages
	limites supérieure et inférieure	Moyenne	Ecart-type	
14	19 000 23 000	21 000	-	2
15	15 000 31 000	24 400	-	5
16	9 000 48 000	28 390	± 6 760	47
17	17 000 40 000	25 900	± 5 320	63
18	14 000 37 000	25 000	± 6 670	33
19	14 000 33 000	23 800	± 6 200	13
20	14 000 26 000	20 000	± -	9
21	5 000 27 000	16 000	-	6
22	18 000 20 000	19 000	-	2

Tableau n° 20 - Taux en ng/ml d'AFP dans le liquide amniotique en fonction de l'âge gestationnel. Notre propre expérience sur 180 dosages.

Ce tableau reflète parfaitement l'analyse de la littérature que nous avons donnée sur l'AFP. Les taux croissent jusqu'à 16 semaines puis décroissent régulièrement avec une petite irrégularité entre 21 et 22 semaines mais non significative.

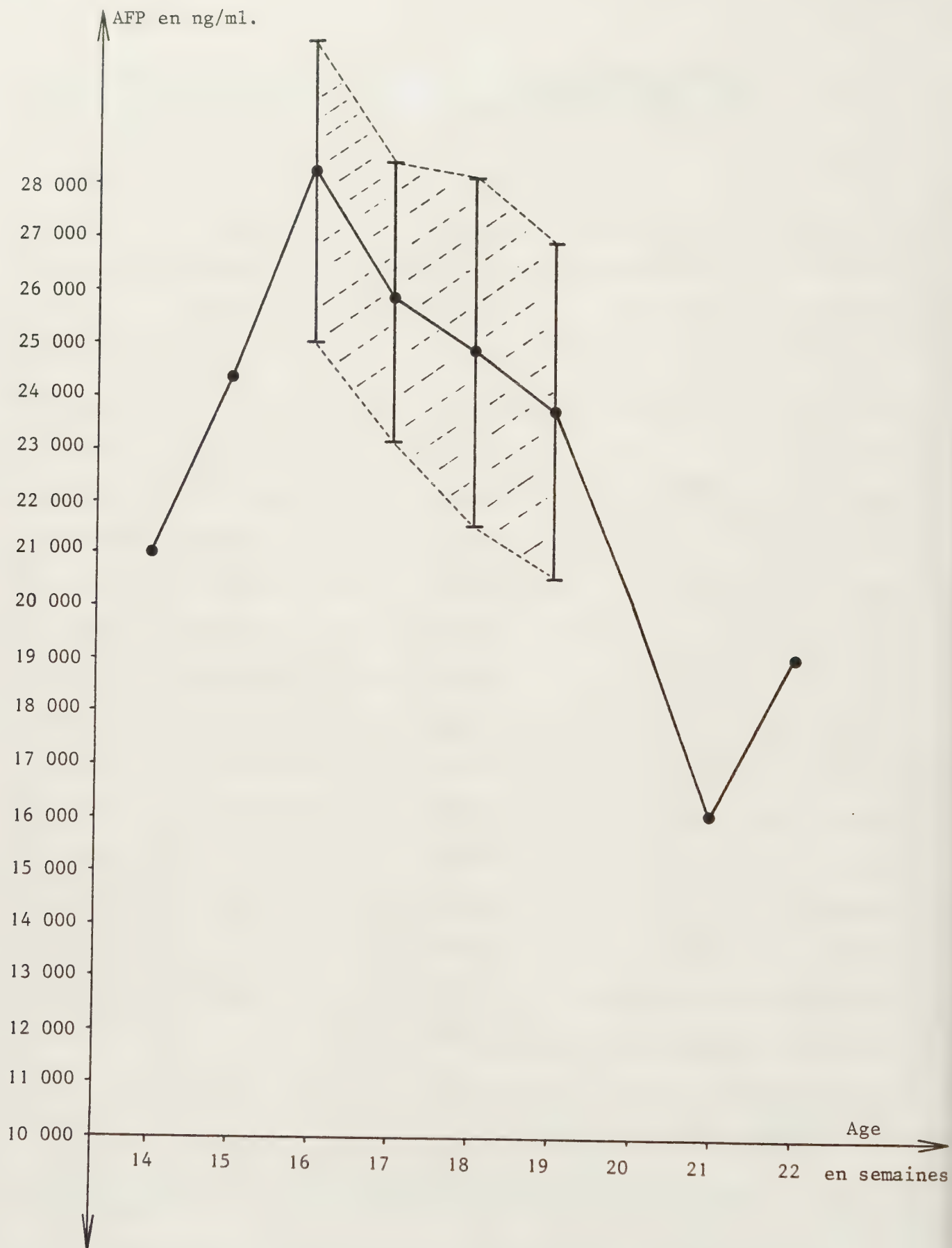


Diagramme n° 4 - Evolution du taux amniotique d'AFP en ngr/ml en fonction de l'âge gestationnel en semaines : étude sur 180 dosages.

Notre taux le plus élevé est de 48 000 ng/ml et est considéré actuellement comme la limite supérieure de la normalité.

Bien que nous n'ayons pas d'anomalies de dosage d'AFP pour les années 1975 - 1976 - 1977, nous rapportons 2 cas pathologiques découverts dans le service en 1974 et 1978.

1ère OBSERVATION - Mme LIM...

Jeune femme de 29 ans dont les 2 premières grossesses se sont terminées par un accouchement prématuré avec 2 enfants porteurs d'une "exencéphalie".

Lors de sa 3ème grossesse en 1974, une amniocentèse est pratiquée à 15 semaines : AFP : 85 000 ng/ml.

Une ponction est effectuée à 16 semaines. AFP : 120 000 ng/ml.

L'interruption de grossesse est décidée et lors de l'injection de sérum de salé on prélève un 3ème échantillon de liquide amniotique : AFP : 114 000 ng/ml.

La patiente expulse un fœtus de sexe masculin sans malformation du tube neural mais l'examen anatomopathologique révèle une "maladie polykystique infantile".

2ème OBSERVATION - Mme BON...

Diagnostic anténatal pour âge maternel.

Amniocentèse à 16 semaines : 380 000 ng/ml soit presque 10 fois le taux supérieur de notre normalité.

Nouvelle ponction à 17 semaines : 400 000 ng/ml.

Une interruption de grossesse est pratiquée. Le fœtus expulsé n'a pas d'anomalie du tube neural mais un LAPAROSCHYSIS avec agénésie du bras droit. Les organes herniés sont à nu sans sac péritonéal ; l'orifice est large : 2/3 de la paroi abdominale droite jusqu'au cordon qui, lui, s'insère normalement sur la paroi abdominale.

D'autres auteurs ont rapporté des observations analogues :

- BINGS (7 bis).

Indication : âge maternel : 40 ans.

AFP : 82 µg/ml (N < 50).

Interruption : large omphalocèle contenant le foie.

- KING (84)

Indication : hydramnios à 20 semaines.

AFP : 250 µg/ml (2 < N < 18).

Interruption : omphalocèle de 3 cm.

- CLARKE (29), NEVIN, LESCHOT.

4.1.3.3 - EN CONCLUSION :

L'AFP dans le liquide amniotique présente un intérêt majeur dans le diagnostic des malformations fœtales, mais elle n'a aucune valeur indicative sur l'importance des lésions. Il y a donc beaucoup à attendre comme examen complémentaire de

l'échographie qui peut quantifier l'absence de fermeture du tube neural ou la taille d'une omphalocèle ou d'un laparochysis et de la foetoscopie qui visualise ces malformations.

4.2 - ETUDE DES CELLULES NON CULTIVEES

Trois paramètres cytologiques sont étudiés de façon non systématique sur les liquides de ponction (S. Guibaud).

4.2.1 - TEST DE KLEIHauer SUR LE LIQUIDE AMNIOTIQUE (OU RECHERCHE D'ERYTHROCYTES).

Les ponctions sanglantes sont fréquentes et ce sont elles qui nécessitent un test de Kleihauer afin de déterminer quelle est la participation maternelle ou foetale de l'hémorragie intraamniotique.

Cette recherche est intéressante à plusieurs points de vue dans le cadre du diagnostic anténatal.

4.2.1.1 - S'il s'agit d'érythrocytes foetaux :

On peut tirer deux conclusions :

- le taux d'AFP risque d'être faussé puisque la présence d'érythrocytes foetaux traduit la contamination du liquide par du sang foetal dont la concentration en AFP est plus de cent fois supérieure.
- si la femme est rhésus négatif il faudra soupçonner plus spécialement un passage transplacentaire et donc accorder une grande importance à la réalisation d'un test de Kleihauer dans le sang maternel pour la prévention des allo-immunisations anti-rhésus.

4.2.1.2 - S'il s'agit de sang maternel :

La contamination risque de fausser les culture cellulaires, en sélectionnant des cellules maternelles qui, au laboratoire de cytogénétique, donneront le caryotype de la mère et non celui de l'enfant.

En cas de liquide hémorragique, quatre types de réponse peuvent être rendues :

- présence d'érythrocytes maternels et foetaux.
- présence d'érythrocytes maternels.
- présence d'érythrocytes foetaux.
- présence d'érythroblastés et d'érythrocytes foetaux.; la présence d'érythroblastés doit faire soupçonner une lésion plus importante

soit du cordon soit du fœtus.

Une seule fois a été signalée la présence d'éléments de type lymphocytaire. Nous n'avons pas d'arguments de discussion à leur sujet. La grossesse a abouti à la naissance d'un enfant normal avec une numération et formule sanguines non pathologique.

4.2.2 - SEXE CHROMATINIEN

La réalisation du sexe chromatinien sur les cellules du liquide amniotique n'est possible que si le nombre de cellules est suffisant et si leur qualité est excellente. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules porteuses ou non du corpuscule chromatinien ou corpuscule de BARR. L'interprétation de cet examen est délicate et le résultat ne peut avoir de valeur formelle permettant d'envisager une conduite à tenir dans le cas des maladies métaboliques liées au sexe.

Dans ce travail nous avons 90 observations pour lesquelles une recherche du sexe chromatinien a été faite.

On distingue trois groupes de réponse :

4.2.2.1 - Sexe impossible

38 fois la recherche fut impossible en raison du trop petit nombre de cellules présentes.

4.2.2.2 - Absence de corpuscule de Barr

Cette réponse est donnée en pourcentage. 28 fois le laboratoire a répondu que le sexe probable était masculin :

- 22 fois avec 100 % de cellules sans corpuscule. Il n'y a pas eu d'erreur.
- 6 fois avec un pourcentage voisin de 100 % mais avec quelques cellules douteuses.
(95 %, 99 %, 95 %, 98 %, 96 %, 98 %).
Nous n'avons pas eu d'erreurs.

4.2.2.3 - Présence de corpuscule de Barr

Cette réponse est aussi fournie en pourcentage.

24 fois le laboratoire a répondu que le sexe probable était féminin. Les pourcentages varient de 3 à 30 %. Sur les 24 observations présumées de sexe féminin il y eut "deux erreurs" correspondant :

- Dans un cas à la présence de 3 % seulement de cellules avec corpuscu-

le de Barr.

- Dans l'autre cas à la présence de 5 % de cellules avec corpuscule.

Les résultats rendus avec la mention "sous réserve" montrent bien que la présence d'un faible pourcentage de cellules avec corpuscule de Barr doit être interprété avec prudence. Il peut s'agir d'artefact technique ou éventuellement de contamination par des cellules maternelles.

4.2.3 - RECHERCHE DE L'Y FLUORESCENT

CASPERSON (27) en 1970 a montré que la partie distale des bras longs du chromosome Y métaphasique avait des affinités tinctoriales spécifiques après absorption de colorants fluorescents du groupe de l'ATEBRINE.

Cette fluorescence peut être détectée dans les noyaux interphasiques des sujets mâles sous forme d'un corpuscule fluorescent appelé "corpuscule Y" ou "corpuscule F".

4.2.3.1 - TECHNIQUE

Elle se fait en trois étapes :

4.2.3.1.1 - Fixation

Après centrifugation du liquide amniotique pendant 5 minutes, puis suspension du sédiment dans l'acide acétique et enfin étalement sur lame.

4.2.3.1.2 - Coloration

Elle se fait avec une solution aqueuse de 0,5 % de "Quinacrine-dihydrochloriol".

4.2.3.1.3 - LECTURE

Comptage de 100 cellules amniotiques bien étalées.

4.2.3.2 - EXPERIENCE DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE (58)

Un travail préliminaire a été réalisé sur 50 liquides amniotiques prélevés après 25 semaines d'aménorrhée sur lesquels a été pratiquée la double détermination du corpuscule fluorescent Y et du corpuscule de Barr.

- . dans 28 cas, alors que le pourcentage de cellules avec corpuscule de Barr était inférieur à 4 %, celui de l'Y fluorescent était de 10 %.
La concordance des deux méthodes plaidait en faveur du sexe masculin ce qui fut confirmé à la naissance.
- . dans 21 cas le pourcentage de cellules avec corpuscule de Barr était compris entre 10 et 34 % et celui de l'Y fluorescent inférieur à 2 % ; la prédiction de sexe féminin fut confirmée.
- . dans 1 cas le diagnostic a été erroné par défaut de technique du corpuscule de Barr : réponse 1 % et le sexe de l'enfant à la naissance était féminin.
Pour expliquer ce faux résultat, il faut préciser que la fixation des cellules n'avait eu lieu que 24 heures après le prélèvement alors même que, l'échantillon n'avait pas été placé à + 4° C et que le culot était hématique.

SCHWINGER (148) en rapporte 17 cas :

- pour les 8 foetus masculins, le taux de cellules à corpuscule fluorescent est compris entre 48 et 73.
- pour les 9 foetus féminins le taux est nul.

4.2.3.3 -

Dans notre travail la technique de l'Y fluorescent a été réalisée dans tous les cas de maladies liées au sexe. Les résultats ont toujours été en accord avec ceux fournis par le corpuscule de Barr.

4.2.3.4 - DISCUSSION DE LA TECHNIQUE

4.2.3.4.1 - Causes d'erreurs possibles :

- les faux positifs : certains autosomes peuvent être fluorescents.
- les faux négatifs : certains chromosomes Y de petite taille ne sont pas fluorescents.

4.2.3.4.2 - Intérêts de la technique :

Cette recherche est simple et rapide et la valeur de ses résultats lui confère un intérêt indiscutable surtout si elle est couplée à la recherche du corpuscule chromatinien. Elles donnent à elles deux une sécurité acceptable dans le diagnostic prénatal du sexe. Cependant elles ne sauraient se substituer au caryotype pratiqué sur les cellules cultivées. En effet si pour le diagnostic de sexe

elles paraissent fiables quand elles sont couplées, leur prétention dans le diagnostic des aberrations gonosomiques. (Turner - Klinefelter) est limitée.

4.3 - ETUDE DES CELLULES CULTIVEES

Comme il a déjà été précisé, lors de la ponction nous prélevons deux tubes de liquide : le premier réservé aux explorations du surnageant et des cellules non cultivées, le deuxième pour le laboratoire de culture cellulaire (Hôpital Debrousse, laboratoire du professeur Cotte, Mesdemoiselles M. Mathieu et M.Th. Zabet). Lorsque la pousse cellulaire est suffisante les lames sont alors confiées à Madame le docteur C. Laurent, service de cytogénétique à l'Institut Pasteur, pour établir le caryotype.

4.3.1 - CARACTERISTIQUES DU LIQUIDE

Le liquide est transporté dans des thermos entre 30 et 37° C dans un délai aussi bref que possible.

Avant de commencer la mise en culture les caractéristiques du liquide sont notées :

4.3.1.1 - COULEUR DU LIQUIDE

Le pronostic de la pousse d'après la couleur ne peut être fait, si ce n'est pour les liquides très foncés mais non sanglants. Les échantillons hémorragiques ont deux inconvénients :

- celui d'inhiber la pousse par la présence d'hémoglobine et d'englober les cellules amniotiques dans des micro-caillots.
- celui d'embrouiller les cartes pour le cytogénéticien, car les cellules maternelles risquent de pousser avec les cellules foetales et donc de fausser les caryotypes.

4.3.1.2 - ASPECT CELLULAIRE (78)

Un premier examen microscopique va apprécier grossièrement le type des cellules en présence dans l'échantillon amniotique :

- SUTHERLAND (158) en dénombre 5.
- HOEHN (75) seulement 3 ; en fait pour l'auteur il existerait des états intermédiaires entre les pures cellules épithélioïdes et les pures cellules fibroblastiques.
- JACOBSON (79) reconnaît essentiellement trois activités cellulaires.
 - . des grosses cellules qu'il pense être d'origine trachéale et qui ont une activité mitotique rapide : 48 heures.
 - . des cellules épithélioïdes à activité mitotique intermédiaire : 4 à 8 jours.
 - . des fibroblastes à activité plus lente : 8 à 15 jours.

En ce qui concerne le laboratoire lyonnais on identifie pour faire un pronostic de pousse essentiellement deux types cellulaires décrits subjectivement :

- des cellules "rondes" qui sont des fibroblastes, appelés par certains auteurs "fibroblast like", un peu différent des fibroblastes de peau

humaine et dont la présence en nombre suffisant laisse prévoir une bonne pousse.

- des cellules "carrées", correspondant à des cellules épithéliales ou à des cellules rondes qui souffrent ou qui sont mortes et qui de ce fait se collent moins vite et moins bien sur les supports retardant la pousse.

Les cellules épithéliales sont d'origine muqueuse, alors que les fibroblastes sont d'origine cutanée par desquamation.

4.3.1.3 - DENSITE CELLULAIRE

Elle est calculée avant toute centrifugation car théoriquement elle permet de faire un pronostic sur la pousse.

Le comptage des cellules a été pratiqué en 1975, 1976 et une partie de 1977 par la "cellule de MALASSEZ" et pour la fin de 1977 par la "cellule de THOMAS". La réponse est donnée en nombre de cellules par millimètre cube. Il semble exister un double rapport direct entre :

- le nombre de cellules et l'âge en semaine d'aménorrhée de grossesse. HAHNEMANN (61) par ses travaux a nettement montré que le nombre total de cellules d'une part et la proportion de cellules viables d'autre part sont très faibles jusqu'à la 15^e semaine. Ainsi les cultures de cellules de liquides prélevés trop précocement vont, soit pousser très lentement avec un nombre réduit de foyers, soit conduire à des échecs. Il est donc préférable de faire des ponctions après 16 semaines ce qui accélère la pousse et par conséquent le délai de résultat (11).
- le nombre de cellules et le pourcentage d'échec de culture.

4.3.1.4 - ASPECT DU CULOT

La quantité de liquide reçue est scindée en deux pour subir des traitements différents :

4.3.1.4.1 - LA PREMIERE PARTIE

: 3 à 5 ml n'est pas centrifugée mais distribuée :

- 3 ml dans un flacon spécial en plastique (falcon) auquel on va ajouter un milieu enrichi.
- 2 ml qu'on répartit dans deux boîtes de Pétri avec lamelles et milieu de culture.

4.3.1.4.2 - LA DEUXIEME PARTIE

Elle subit une centrifugation lente et peu prolongée de 6 minutes à 900 tours. On obtient ainsi :

- un surnageant dans lequel quelques cellules ont pu rester, dont un échantillon est récupéré pour analyse biochimique ultérieure et l'autre est mise en culture comme la première partie.
- un culot cellulaire qui sera le principal acteur de la culture cellulaire.

4.3.2 - LA CULTURE CELLULAIRE

4.3.2.1 - TECHNIQUE

Elle doit être pratiquée le plus vite possible après le prélèvement soit 3 ou 4 heures. Les cultures de cellules amniotiques sont un peu différentes des cultures de biopsie de peau.; dans le liquide amniotique les cellules y sont moins abondantes et sont des cellules desquamées, alors qu'elles sont nombreuses et vivantes dans les biopsies de peau. On utilise alors des milieux nutritifs riches de type HAM F' 10 avec : des sucres, des vitamines, des amino-acides, des oligo-éléments et supplémenté avec un sérum de veau foetal à 20 % pour le démarrage de la pousse. BOUE (11) utilise un milieu de type RPMI 1640. On ajoute systématiquement des antibiotiques (péni-strepto) et des antifongiques ; cet additif est indispensable car son absence lors des premières cultures a été la cause de nombreux échecs (cf. incidents de culture).

Tous les éléments étant réunis pour mettre en culture, on se sert de boîtes de PETRI, dans lesquelles on dépose des lamelles où se colleront les cellules, et on ajoute liquide amniotique, milieu enrichi et antibiotiques - antifongiques. Plusieurs boîtes sont ainsi préparées dont le nombre varie en fonction de la densité cellulaire : si peu de cellules peu de boîtes et inversement.

Le processus de culture est commencé ; les boîtes sont mises à l'étuve à une température de 36° 8 C comme optimum, les variations acceptables se situant entre 36° 5 C et 37° C.

Dans l'étuve il faut 100 % d'humidité en atmosphère enrichie de 5 % de CO₂. La stabilité de cette température est primordiale et pourtant souvent détruite par les conditions techniques de surveillance des boîtes ; l'étuve est régulièrement ouverte mettant en contact sa température stabilisée avec celle du laboratoire, variable avec les intempéries, les saisons, les conditions de chauffage. Ces variations brutales thermiques et hygrométriques seront compensées par l'autoclave rapidement, mais auront lésé la culture pendant quelques minutes. On est certain, par notre expérience, que ces agressions peuvent ralentir ou tuer une pousse fragile.

Les boîtes sont laissées en place pendant 6 jours, afin de permettre aux cellules de se fixer sur les lamelles, car seules les cellules accrochées se multiplieront. Le milieu de culture est changé deux fois par semaine. Les cellules dispersées sur la lamelle, en se multipliant vont former des "CLONES".

Au 8ème jour de la culture se fait la première observation à but pronostic ; deux situations peuvent se présenter :

- on ne voit aucun clone sur les lamelles, la boîte est remise à l'étuve 48 heures et réexaminée au 10è jour. Si à cette période, il n'y a toujours rien, une deuxième ponction est demandée. Nous verrons dans nos résultats que, plusieurs fois le laboratoire constatant une mauvaise pousse, a demandé une nouvelle amniocentèse, alors que les cellules de la première se sont mises à pousser tardivement permettant d'effectuer le caryotype.

- la deuxième situation est favorable. Un ou plusieurs clones sont déjà formés ; la surveillance accélère son rythme à la recherche des cellules en phase mitotique. Toutes les 24 heures on estime le nombre de cellules en division et ce n'est qu'à partir de 20 mitoses qu'on considère une lamelle comme prête à l'examen cytogénétique. Plusieurs clones seront envoyés au caryotype afin d'éviter des erreurs de lecture dues à des mutations spontanées ou induites par mycoplasmes qui auraient pu toucher la première cellule d'un clone rendant toutes ses cellules porteuses de la mutation.

La pousse cellulaire paraissant satisfaisante, deux techniques différentes seront adoptées suivant que la culture s'adresse à la détermination du caryotype ou à l'identification d'une maladie métabolique.

4.3.2.1.1 - POUR LE CARYOTYPE

Il suffit d'avoir obtenu plusieurs clones avec un nombre de mitoses supérieur à 20 (flush de mitoses) pour envoyer une lamelle à la lecture. On doit porter une grande attention à cette période de pousse car le "Flush" est rapide et en une nuit on risque de gacher une lamelle. Ce problème de surveillance est très aigu pour les nuits et pour les week-ends ; le seul stade de mitose utilisable étant la métaphase sélectionnée par l'addition de colchicine.

Les lamelles en bon stade sont envoyées en cytogénétique et les autres sont conservées à l'étuve où on continue la pousse afin de pouvoir soit fournir une autre lamelle au caryotype si le premier n'a pu être effectué soit mettre les cellules en "Banque". Pour la mise en banque la présence de clones n'est pas suffisante, il est nécessaire que ceux-ci soient développés sur toute la surface de verre pour obtenir ce qu'on appelle une "lamelle confluente". On procède alors à un "repiquage" (terme français) ou à une "Subculture" (terme anglais) qui consiste à décoller les cellules de la lamelle par une ou plusieurs "trypsinations" suivant l'importance de l'adhérence cellulaire. Cette technique autorise à remettre les cellules décollées en culture dans des flacons plastiques (falcon) pour pratiquer des "cultures secondaires". Ces dernières seront alors congelées et conservées d'où le nom de banque. L'intérêt de cette conservation est de permettre un contrôle caryotypique s'il s'avère nécessaire après l'accouchement.

4.3.2.1.2 - POUR LES MALADIES METABOLIQUES (105)

La présence de clones ne suffit pas, une confluence sur les lamelles est nécessaire ainsi qu'un "repiquage" et une culture cellulaire secondaire ; les études enzymatiques demandent une densité cellulaire variable mais de toute façon toujours supérieure à celle suffisante pour le caryotype.

Pour conclure sur les techniques de culture, nous donnerons les temps "théoriques" pour obtenir un résultat (cf. nos résultats).

- . pour un caryotype, si la pousse est favorable, un résultat pourra être obtenu en 10 à 12 jours. (nous verrons que ce temps est très optimiste).
- . pour une maladie métabolique l'obligation d'une culture secondaire ne donnera une réponse qu'en trois à quatre semaines.

4.3.2.2 - INCIDENTS DE LA CULTURE CELLULAIRE

4.3.2.2.1 - PONCTION TROP PRECOCE

Un liquide prélevé trop tôt, avant 16 semaines, peut entraîner des échecs de pousse par faible densité cellulaire. Notre laboratoire considère qu'un minimum de 30 à 40 000 cellules par millimètre cube est nécessaire pour envisager la culture. Cette notion avait déjà été précisée par le Docteur NIERMEIJER de Rotterdam.

4.3.2.2.2 - LES LIQUIDES SANGLANTS

Ils sont aussi théoriquement une gêne à la pousse. Les globules rouges empêchent les cellules amniotiques de se fixer sur les lamelles ; et les lymphocytes forment une couronne autour des cellules foetales fixées limitant leur prolifération.

La présence du sang pourra retarder la pousse ou l'inhiber.

4.3.2.2.3 - LE PRELEVEMENT DOIT ETRE FAIT STERILEMENT

Les trois temps de prélèvement, transport et mise en culture doivent être faits stérilement, ; les milieux de culture nécessaires à la pousse cellulaire, se raient des nourritures de premier choix pour les bactéries, mycoplasmes, champignons.. C'est pour cette raison que les antibiotiques et antifongiques sont systématiquement utilisés.

Le problème majeur est celui des mycoplasmes et des virus qui peuvent être dangereux pour l'interprétation des résultats ; ils peuvent :

- produire des cassures ou des translocations chromosomiques (162).
- rendre les cellules en culture, douteuses dans le diagnostic de Lesh-Nyhan en modifiant le dosage en hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase (HGPT), comme l'a montré TISCHFIELD (166).

Deux conclusions sont à tirer de ces problèmes de contamination :

- trouver un moyen de diagnostiquer facilement la contamination par mycoplasmes et virus ; RUSSEL a proposé la microscopie en fluorescence. Dans notre laboratoire une vérification systématique, tous les 6 mois, de l'absence de ceux-ci est faite par l'Institut Pasteur.
- analyser un grand nombre de cellules lors du caryotype pour ne pas se laisser abuser par des anomalies chromosomiques induites.

4.3.2.3. - NOS RESULTATS4.3.2.3.1 - RAPPORT ENTRE LE NOMBRE DE CELLULES ET L'AGE GESTATIONNEL

La densité cellulaire n'a pas été recherchée en 1975. Sur 1976 et 1977, nous rapportons 177 analyses faites pour la grande majorité à la cellule de Malassez qui est moins précise que la cellule de Thomas ; les chiffres seront tout de même analysés ensemble ce qui diminue légèrement la valeur de nos résultats, et sont colligés dans le tableau n° 21.

Age en semaine	Densité cellulaire par mm ³			Moyenne	Nombre de culture
	Inférieure		supérieure		
14	15 000	-	20 000	17 500	2
15	20 000	-	100 000	46 000	3
16	0	-	120 000	39 700	46
17	15 000	-	900 000	98 600	62
18	30 000	-	950 000	137 000	31
19	20 000	-	450 000	120 000	11
20	30 000	-	960 000	282 000	9
21	40 000	-	300 000	101 000	7
22	270 000	-	900 000	440 000	4
23	300 000	-	360 000	330 000	2

Tableau n° 21 - Relation : densité cellulaire et âge gestationnel.

L'interprétation montre que la moyenne cellulaire croît régulièrement à partir de 14 semaines jusqu'à 18 semaines. On note à 16 semaines un chiffre inférieur à celui de 15 semaines, cette variante est due au fait que 3 liquides sur les 46 étaient dépourvus de cellules (ces 3 liquides ont pourtant poussé).

La valeur des chiffres après 18 semaines perd de son intérêt par le faible nombre de cas mais montre que la densité cellulaire est toujours supérieure à 100 000 cellules par mm³.

4.3.2.3.2 - LES "FAUX ECHECS" DE CULTURE.

Nous réservons cette dénomination aux cultures qui après 8 à 10 jours d'étuve ne donnent pas de pousse cellulaire suffisante pour espérer un examen cytogénétique ou des cultures secondaires. Leur constatation a fait demander une nouvelle amniocentèse et nous avons eu la surprise à retardement de voir démarrer la première culture autorisant un caryotype avant la pousse de la seconde. Ces cas correspondent à une pousse lente dont nous avons essayé de trouver l'étiologie en rapport soit avec le nombre de cellules soit avec la contamination sanglante du liquide.

Sur les 177 analyses, 11 ponctions ont été redemandées alors que la première a finalement donné le résultat : soit 6,2 % de faux échecs de culture.

Sur le tableau n° 22, nous avons noté les 11 cas en fonction de 5 paramètres : âge gestationnel, densité cellulaire, couleur du liquide, indications, âge maternel.

N°	Age gestationnel	Densité cellulaire	Couleur du liquide	Indications	Age maternel
1	16	120 Mille	clair	Trisomie 21	30
2	16	35 Mille	clair	Age maternel	38
3	16	30 Mille	sang	Trisomie 21	21
4	16	30 Mille	?	Age maternel	42
5	16	30 Mille	clair	Age maternel	39
6	17	15 Mille	clair	Trisomie 21	?
7	17	40 Mille	clair	Age maternel	42
8	17	25 Mille	clair	Age maternel	40
9	17	30 Mille	clair	Age maternel	38
10	17	120 Mille	clair	Trisomie 21	31
11	17	60 Mille	sang	Trisomie 21	24

Tableau n° 22 - Interprétation de 11 faux échecs de culture par 5 paramètres.

4.3.2.3.2.1 - Faux échecs et âge gestationnel

Sur les 11 cas :

- 5 sont à 16 semaines
- 6 sont à 17 semaines.

Nous aurions plutôt attendu des liquides précoces de 14 ou 15 semaines.

4.3.2.3.2.2 - Faux échecs et densité cellulaire

- . pour les 5 liquides à 16 semaines

Nous avons vu dans le tableau précédent que la moyenne de la densité cellulaire à 16 semaines est de 39 700 or nos échantillons sont nettement inférieurs à ce chiffre.

- . pour les 6 liquides à 17 semaines.

La moyenne à 17 semaines a été calculée à 98 600, or 5 sur les 6 sont nettement inférieurs à ce chiffre.

Bien que le nombre d'échantillons soit faible, il semble qu'on puisse faire un pronostic sur la culture en fonction du nombre de cellules rapporté à l'âge gestationnel.

4.3.2.3.2.3 - Faux échecs et aspect du liquide

Il n'y a, de toute évidence, aucune relation entre l'aspect du liquide et les faux échecs. Sur les 11 cas il n'y a que 2 liquides sanglants.

4.3.2.3.2.4 - Faux échecs et âge maternel ou indication

8 des 10 femmes dont l'âge est connu ont plus de 30 ans.

Les indications sont :

- dans 6 cas : âge maternel
- dans 5 cas : trisomie 21.

4.3.2.3.3 - LES "VRAIS ECHECS" DE CULTURE

Nous appelons "vrai échec" de culture les cas où la pousse a été nulle et qu'une deuxième ponction a dû être faite.

Sur 229 observations on a répertorié 60 échecs de culture soit 26 %, répartis :

- en 1975 : 14 sur 32 soit 43 %

A U T E U R S	NOMBRE D' AMNIOCENTESIS	NOMBRE D'ECHECS de CULTURE	
MISKIN	79	5	6,3 %
HENRION (68)	201	7	3,4 %
GOLBUS	112	6	5,3 %
PRESCOTT	55	4	7,2 %
ROBINSON	182	52	28,5 %
GERBIE	266	12	4,5 %
MILUNSKY (115)	100	6	6 %
NADLER	370	23	6,2 %
ALLEN	110	10	9 %
SCRIMGEOUR	43	0	0 %
THOULON (164)	40	4	10 %
GIRARD (49)	58	8	14 %
LINDSTEN (96)	175	7	4 %
CRANDALL (31)	350	28	8 %
LARGET-PIET (90)	317	19	6 %
TOTAL	2 458	191	7,7 %

Tableau n° 23 - Pourcentage d'échecs de culture dans la littérature.

- en 1976 : 16 sur 80 soit 20 %.
- en 1977 : 30 sur 117 soit 25 %.

Parmi les 60 échecs, il y eut 6 fois un deuxième échec de culture soit : 10 %. Le caryotype n'a pu être effectué 10 fois sur 229 soit 4,3 %.

- . 3 fois les couples postulants ont refusé une deuxième ponction.
- . 1 fois l'indication était une malformation du tube neural et on s'est contenté du dosage de l'AFP.
- . 6 fois, il y eut 2 échecs successifs et la grossesse était alors trop avancé pour envisager une troisième ponction.

Dans la répartition par années, on observe la forte proportion d'échec en 1975 période où la culture de cellule n'était pas encore très au point. Il n'en demeure par moins qu'en 1976 et 1977 notre pourcentage d'échec se situe entre 20 et 25 %. Nous rapportons dans le tableau n° 23 les chiffres de la littérature.

Nos échecs (20 à 25 %) comparés à ceux des auteurs (7,7 %) sont 3 fois supérieurs. Pour essayer d'argumenter nos résultats nous signalons que sur nos 60 échecs, 9 fois la couleur du liquide de ponction n'est pas connue et que sur les 51 restants il y a "10 liquides sanglants" soit 20 % du lot. Sans avoir étudié très précisément les chiffres, les échecs en 1978 paraissent très nettement moins nombreux.

4.3.2.3.4 - LE TEMPS DE POUSSE CELLULAIRE

Nous considérons comme "temps de pousse" le délai en jours pour obtenir une lamelle sur laquelle le nombre de clones est suffisant pour pratiquer un caryotype. Dès lors la lamelle est retirée de l'étuve et envoyée au laboratoire de cytogénétique. Ce temps de pousse est différent du temps de réponse (cf. caryotype).

Notre étude porte sur 156 cultures faites sur des liquides prélevés entre 16 et 20 semaines. Le temps moyen a été de 17,5 jours.

Nous avons tenté d'évaluer les facteurs pouvant améliorer ou perturber la pousse.

4.3.2.3.4.1 - En fonction de l'année (1976 ou 1977) et de l'âge gestationnel.

Les résultats sont exprimés dans le tableau n° 24.

AGE GESTATIONNEL	M O Y E N N E du T E M P S de P O U S S E en J O U R S			EXTREMES en JOURS
	1976	1977	1976 + 1977	
16	19,6	20,1	19,8	7 à 34
17	17,4	17,8	17,6	9 à 36
18	12,5	17,6	15	7 à 35
19	11	15,4	13,2	8 à 29
20	-	17,2	-	-

Tableau n° 24 - Temps de pousse en fonction de l'année (1976-1977) et de l'âge gestationnel.

On ne note aucune amélioration de la technique de culture entre 1976 et 1977, les chiffres de 1977 étant égaux et même parfois supérieurs à ceux de 1976.

Par contre il semble que ce temps diminue avec l'âge auquel est prélevé le liquide excepté pour ceux de 20 semaines qui sont discordants ; en effet en 1976 on passe de 19,6 jours à 16 semaines.

Ces résultats confirment parfaitement ce que nous avons énoncé au chapitre sur la culture cellulaire : le temps de pousse est d'autant plus court que la ponction a été faite plus tardivement.

4.3.2.3.4.2 - En fonction du nombre de cellules.

Si nous considérons, pour chaque tranche d'âge, les cas où le nombre de cellules est nettement supérieur ou inférieur à la moyenne calculée dans le paragraphe densité cellulaire, et que nous calculons pour ces cas extrêmes le temps de pousse moyen, nous pourrions nous faire une idée du rôle du nombre de cellules sur le temps de pousse.

4.3.2.3.4.2.1 - A 16 semaines

La moyenne de la densité cellulaire à cet âge est de 39 700 cellules par mm³. Arbitrairement nous accepterons comme très bonne densité celles supérieures à 60 000 et comme mauvaises celles inférieures à 20 000 cellules. Tableau n° 25.

Nombre de cas	Nombre de cellules	Temps de pousse moyen
14	$\geq$ 60 000	19,2 jours
11	$\leq$ 20 000	19,2 jours

Tableau n° 25 - Rapport nombre de cellules et âge gestationnel à 16 semaines.

Il n'y a aucune différence entre les 2 séries et de plus leurs moyennes de temps correspondent à celles trouvées sur l'ensemble des cas pour le même âge.

4.3.2.3.4.2.2 - A 17 semaines

La moyenne de la densité cellulaire à cet âge est de 98 600 cellules par mm³. Arbitrairement nous fixerons nos limites supérieures et inférieures à 120 000 et 30 000. Tableau n° 26.

Nombre de cas	Nombre de cellules	Temps de pousse moyen
14	$\geq$ 120 000	15,5 jours
16	$\leq$ 30 000	18,6 jours

Tableau n° 26 - Rapport nombre de cellules et âge gestationnel à 17 semaines.

A 17 semaines une différence de 3 jours apparaît entre les liquides pauvres et riches en cellules.

4.3.2.3.4.2.3 - A 18 semaines

La moyenne de la densité cellulaire à cet âge est de 137 400 cellules par mm³. Arbitrairement nous fixerons nos limites supérieures et inférieures à 200 000 et 50 000 cellules. Tableau n° 27.

Nombre de cas	Nombre de cellules	Temps de pousse moyen
4	$\geq$ 200 000	16,2 jours
7	$\leq$ 50 000	22,7 jours

Tableau n° 27 - Rapport nombre de cellules et âge gestationnel à 18 semaines.

A 18 semaines la différence est encore plus nette puisque les liquides pauvres en cellules mettent 6,5 jours de plus pour pousser que les riches.

En résumé d'après nos résultats, il serait tentant de donner un rôle favorable aux fortes densités cellulaires sur le temps de pousse, mais le nombre de nos cas extrêmes dans chaque tranche d'âge paraît bien faible pour être interprétable.

4.3.2.3.4.3 - En fonction du caractère hémorragique du liquide.
(tableau n° 28).

- . à 16 semaines nous avons 6 liquides sanglants dont la moyenne de temps de pousse est de 24,8 jours ce qui est nettement supérieure à la moyenne générale à cet âge : 20 jours.
- . à 17 semaines, nous en avons 4 dont la moyenne de temps de pousse est de 16,7 jours soit meilleure que la moyenne générale à cet âge : 17,6 jours.
- . à 18 semaines : nous en avons 5 dont la moyenne de temps de pousse est de 19,6 jours, soit 4,6 jours de plus que la moyenne générale à cet âge : 15 jours.
- . à 19 semaines : nous en avons 4 dont la moyenne de temps de pousse est de 12 jours soit meilleure que la moyenne générale de cet âge : 13,2 jours.

A G E	Temps de Pousse moyenne en jours	
	liquides clairs	liquides sanglants
16	20	24,8
17	17,6	16,7
18	15	19,6
19	13,2	12

Tableau n° 28 - Rapport temps de pousse et aspect du liquide.

Nos résultats sont ininterprétables en ce qui concerne le rôle des liquides sanglants sur le temps de pousse : à 17 et 19 semaines les liquides hémorragiques poussent mieux et inversement à 16 et 18 semaines.

4.3.3 - LE CARYOTYPE

4.3.3.1 - GENERALITES ET ACTUALITES

Lorsque le "flush de mitoses" a été constaté en laboratoire de culture cellulaire, les lamelles sont envoyées à l'Institut Pasteur de Lyon (Madame le Docteur C. LAURENT). Les cellules y sont bloquées en métaphase par adjonction de Colchicine. BOUE (12) n'utilise pas de colchicine avant la technique du caryotype.

La cytogénétique est une science jeune. Le nombre de chromosomes chez l'homme n'a été déterminé qu'en 1956 par TJIO et LEVAN et ce n'est qu'en 1959 qu'a été découverte la première aberration chromosomique responsable d'un état pathologique : il s'agissait de la trisomie 21.

Pendant 10 ans les découvertes furent nombreuses en anomalies chromosomiques ; mais si ces 10 ans ont permis de reconnaître grossièrement les chromosomes et de les classer, les cytogénéticiens étaient arrivés à une sorte de palier et se sentaient un peu frustrés d'être aussi rapidement limités. C'est en 1970 que CASPERSON (26) met au point de nouvelles techniques : "technique de Bandes" qu'il avait obtenue dès 1968 en colorant les préparations chromosomiques avec un fluorochrome dérivé de l'Acridine : la QUINACRINE.

Les anciennes techniques avaient donné une morphologie peu précise des chromosomes mais autorisant quand même à les compter (22 paires d'autosomes et 1 paire d'hétéro-chromosomes) et à les identifier par la caractéristique de leurs bras court et long. Ainsi on avait 8 groupes de chromosomes : A . B . C . D . E . F . G + chromosomes sexuels. Dans certains groupes, les différents chromosomes étaient difficilement individualisables de par leur ressemblance morphologique. La technique de Bandes ou "Banding" va permettre l'appariement des chromosomes homologues en se basant sur la correspondance exacte qui existe entre des séquences de bandes révélées sur leur bras, mais aussi leur distinction précise dans un même groupe.

4.3.3.1.1 - LE BANDING

Chaque chromosome est caractérisé par une série continue de bandes. Elles appartiennent à des régions délimitées par des frontières spécifiques. Bandes et régions sont caractérisées par leurs numéros, le centromère servant de point de référence. Une carte des bandes de l'équipement chromosomique normal a été établie (131). La production de bandes transversales le long des bras des chromosomes peut être obtenue par une simple coloration avec une substance, fluorescente ou fluorochrome de la série des quinacrine suivie d'un examen en lumière ultraviolette. Cependant elle est également réalisable par d'autres colorants : GIEMSA ou fluorochromes différents de la quinacrine, mais il faut alors user préalablement de traitements particuliers tels que : exposition aux alcalins, chauffage dans une solution saline adaptée, digestion enzymatique...

Ces méthodes provoquent des séquences de bandes reproductibles et caractéristiques de chacun des bras de chaque chromosome. Selon les procédés utilisés ces

séquences sont identiques ou différentes mais présentent alors des relations précises entre elles. On peut actuellement distinguer 5 modèles de bandes : Q - C - G - R - T. On doit mettre à part les bandes C qui permettent seulement la localisation de la région centromérique et sont donc moins précises mais ont leur intérêt dans des cas particuliers (ex : localisation d'un deuxième centromère).

Sur les photos 1 et 2, on distingue nettement la différence de précision du caryotype entre la technique classique et la technique de "Banding".

4.3.3.1.2 - INTERETS DE LA TECHNIQUE DE BANDES

Son utilisation a permis de faire évoluer (16) :

4.3.3.1.2.1 - L'analyse du caryotype normal.

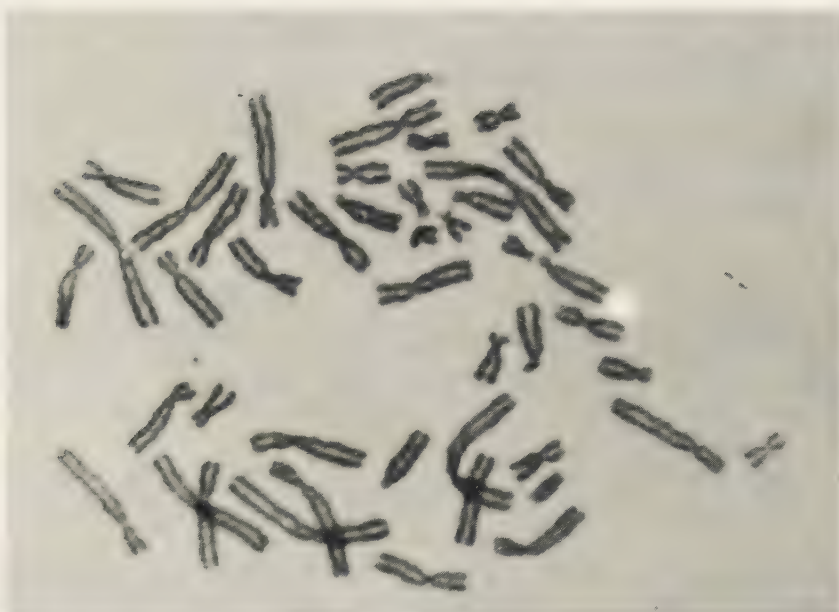
- chaque bras d'un chromosome peut être analysé comme une succession déterminée de bandes.
- une nomenclature s'applique à définir chacune d'elles.
- de plus une conception nouvelle du caryotype résulte de la possibilité d'identifier un grand nombre de variations morphologiques "non pathogènes" des chromosomes.

4.3.3.1.2.2 - L'étude des aberrations chromosomiques constitutionnelles

- la qualité de l'analyse linéaire permise par les techniques de bandes a fait progresser considérablement les possibilités d'identification des anomalies chromosomiques tant numériques que morphologiques, qu'elles touchent les autosomes ou les gonosomes.
- une nouvelle nomenclature précise a dû être établie pour désigner les remaniements chromosomiques qui pouvaient de ce fait être reconnus.
- de nouveaux syndromes cliniques liés à l'excès ou au défaut d'un matériel chromosomique défini sont individualisés.

4.3.3.1.2.3 - La recherche d'aberrations chromosomiques acquises au niveau de certaines populations cellulaires somatiques atteintes d'un état pathologique déterminé.

4.3.3.1.2.4 - Les connaissances fondamentales concernant les transformations et le comportement des chromosomes au cours du cycle de vie des cellules somatiques, au cours des processus méiotiques ou dans les phénomènes qui conditionnent l'évolution des espèces.



Technique classique.



Banding

4.3.3.1.2.5 - La localisation des gènes

4.3.3.1.2.6 - La précision des informations fournies et la nature des solutions proposées aux consultants par le généticien.

4.3.3.2 - Technique de caryotype utilisée à l'Institut Pasteur.

Elle se fait en plusieurs temps.:

- adjonction de Colchicine pour bloquer la métaphase (étape non essentielle et non indispensable) avec 0,04 microgrammes par millilitres de milieu pendant 3 heures (n'est plus pratiquée depuis janvier 1978).
- choc hypotonique avec 1/6^e de sérum de veau foetal dans de l'eau distillée permettant la dispersion des chromosomes.
- fixation "progressive" avec du Méthanol (3 volumes) et acide acétique (1 volume) pour une durée de 15 à 20 minutes.
- séchage de la lamelle avant de commencer la technique des bandes R par dénaturation thermique.

Les lamelles sont plongées dans un bac de EARLE à 86° C pendant 30 à 40 minutes ; puis coloration au Giemsa et observation au microscope en contraste de phase.

Plusieurs photographies sous microscope sont faites, les clichés sont rapidement tirés afin de procéder au découpage des chromosomes appariés par paire sur une fiche cartonnée.

Pour que le résultat soit rendu à partir d'une seule lamelle, il faut qu'il y ait plusieurs clones ; en effet s'il n'y a qu'un clone et que le caryotype est 46 XX, on attendra d'avoir confirmation par une deuxième lamelle, car cet unique clone pourrait dériver d'une cellule maternelle.

4.3.3.3 - DONNEES DU CARYOTYPE DANS NOTRE TRAVAIL

4.3.3.3.1 - SUR LE TEMPS D'OBTENTION DE LA CARTE CHROMOSOMIQUE

Au paragraphe précédent nous avons défini le temps de pousse, dans celui-ci nous allons étudier :

- le temps de réponse : ou temps moyen écoulé entre la ponction et la réponse cytogénétique.
- le délai entre le temps de pousse et le temps de réponse.

4.3.3.3.1.1 - Temps de réponse

Il a été calculé pour 199 cas et les résultats sont rapportés dans le tableau n° 29.

ANNEE	Nombre de cas	Moyenne d temps de réponse en jours	Temps maximum en jours	Temps minimum en jours
1975	20	28,6	76	16
1976	72	24,8	70	11
1977	107	25	49	9
Total	199	Temps moyen sur les 3 ans : 25,3 jours		

Tableau n° 29 - Temps de réponse en jours.

Le tableau montre :

- une amélioration du temps de réponse, de 3 jours entre 1975 et 1976 - 1977.
- une amélioration nette des temps maxima qui passent de 76 à 49 jours et des temps minima qui passent de 16 à 9 jours.

On peut donc à Lyon obtenir un caryotype en 9 jours à partir de la date de la ponction ; mais notre moyenne reste à 25,3 jours ce qui est bien supérieur à ce que publient de nombreux auteurs soit environ 15 jours.

4.3.3.3.1.2 - Délai entre temps de pousse et temps de réponse

Il correspond au nombre de jours qui séparent l'envoi d'une lamelle du laboratoire de culture cellulaire de la réponse caryotypique par le laboratoire de cytogénétique.

Le temps moyen de pousse étant de 17,5 jours et le temps moyen de réponse de 25,3 jours, la réalisation du caryotype demanderait théoriquement : 7,8 jours. Or ces 7,8 jours ne sont pas la durée de la technique, mais le délai nécessaire à la réalisation de préparations correctes. Le laboratoire de culture n'envoie pas une seule lamelle, mais une série à intervalle variable, suivant le degré de maturation cellulaire. Les cytogénéticiens tentent de fournir le résultat à partir de la première lamelle, mais soit par défaillance technique ou cellulaire, soit parce

qu'il est difficile d'éliminer une éventuelle contamination par des cellules maternelles, les jours passeront mais au bénéfice d'une réponse "plus précise et plus sûre".

4.3.3.3.2 - SUR NOS RESULTATS

Le caryotype des parents étant exigé systématiquement nos résultats concernent : (tableau n° 30) :

- 237 caryotypes parentaux.
- 227 caryotypes foetaux sur 237
- puisque 10 liquides n'ont pas poussé.

4.3.3.3.2.1 - Chez les parents :

- 237 caryotypes parentaux représentent donc 474 caryotypes.
- Il a été découvert 24 anomalies chromosomiques :
 - . 14 chez des postulants qui présentaient comme indication un bilan de FCS à répétition - dont :
 - 13 translocations équilibrées
 - 1 inversion péricentrique du chromosome 1.
 - . 5 chez des postulants dont l'indication était : enquête dans une famille porteuse d'une translocation équilibrée et chez lesquels 5 soit la totalité étaient porteurs de la translocation.
 - . 5 chez des postulants pour âge maternel - dont :
 - 4 translocations équilibrées.
 - 1 double satellite sur les bras courts du chromosome 22 de la mère.

4.3.3.3.2.2 - chez les foetus :

227 caryotypes ont été effectués, et il a été découvert 13 anomalies chromosomiques soit : 5,7 %.

- 8 translocations équilibrées correspondant à celle d'un des parents.
- 1 double satellite sur le bras court du chromosome 22 comme chez la mère.
- 1 inversion péricentrique du chromosome 1 comme chez le père.
- 1 translocation 4 - 9 "non équilibrée" alors que la mère la portait équilibrée (interruption de grossesse).
- 1 Klinefelter (n° 231) 47 XXY alors que les parents avaient un caryo-

type type normal. Après entretien avec le cytogénéticien les parents ont décidé de garder la grossesse ; l'enfant est né et vérifié 47 XXY. Indication : âge maternel.

- 1 trisomie 21 (n° 193) ; les parents avaient des caryotypes normaux et l'indication était : âge maternel (fera une fausse couche).

CRANDALL (31) sur 193 amniocentèses pour âge maternel a découvert 6 anomalies chromosomiques non équilibrées, alors que nous en avons 2 sur 115.

A N O M A L I E S C H R O M O S O M I Q U E S D E C O U V E R T E S			
	Nombre	Pourcentage	T Y P E S
Parents	24	5	22 translocations équilibrées. 1 double satellite sur bras court du chromosome 22. 1 inversion péricentrique du chromosome 1.
Foetus	13	5,7	8 translocations équilibrées 1 double satellite bras court du chromosome 22 1 inversion péricentrique du chromosome 1. 1 translocation 4 - 9 <u>non</u> équilibrée. 1 Klinefelter. 1 Trisomie 21.

Tableau n° 30 - Découvertes d'anomalies dans notre travail.

4.3.3.3.3 - CARYOTYPES CONTROLES NON CONFIRMATIFS

Ce genre de problème est exceptionnel et aucun laboratoire ne se flattera d'en avoir ; il en existe malgré tout 4 ou 5 publications dans la littérature, dont KATAYAMA (81) qui en publie 2 cas sur 154 observations.

Dans notre travail deux fois un caryotype répondu sur le liquide amniotique ne correspondait pas au caryotype vérifié du foetus ou de l'enfant :

Sur ces deux cas, un provient du laboratoire de cytogénétique de Lyon, l'autre de Rotterdam (Professeur NIERMEIJER) à qui nous avons confié la culture et l'établissement de la carte chromosomique.

4.3.3.3.1 - Observation n° 682

Ponction pour âge maternel ; caryotypes des parents normaux ; caryotype foetal : 47 XY trisomie 17 ; Interruption de la grossesse : foetus vérifié 46 XY normal.

Explications du laboratoire :

La trisomie 17 a été retrouvée sur 5 lamelles après étude de 25 mitoses. L'examen des fibroblastes du produit d'avortement a été formel : 46 XY. Il peut s'agir soit d'une erreur, soit d'une mosaïque.

4.3.3.3.2 - Observation n° 171

Ponction pour antécédents de trisomie 21 : caryotypes des parents normaux : caryotype foetal : 46 XY. En fait l'enfant mort in utero à la suite d'une néphropathie naîtra avec un phénotype féminin.

Pour expliquer ce résultat, nous rapportons que la ponction n° 171 fut pratiquée le même jour que la ponction n° 172 et toutes deux adressées à Rotterdam au professeur NIERMEIJER pour culture cellulaire et caryotype.

Des deux cultures une n'a pas poussé et l'autre autorisait un caryotype de type 46 XY. L'enfant du couple à qui aucune réponse n'a été rendue pour cause d'échec de culture est né de sexe masculin.

Où est la part d'erreur de technique et celle d'intervention des résultats ??

4.3.4 - DIAGNOSTIC DES MALADIES METABOLIQUES

Il se fait à partir de culture de cellules secondaires après obtention de lamelles confluentes (cf. culture cellulaire).

Il s'agit de dosages enzymatiques très spécialisés et dont la réalisation nécessite des techniques aussi savantes que variées ; si le laboratoire d'enzymologie du Professeur Cotte à l'hôpital Debrousse est adapté aux diagnostics de nombreuses maladies métaboliques, certains devront être faits dans des laboratoires étrangers tels que celui de Chicago ou celui de Rotterdam. Les centres de recherche sont plus ou moins spécialisés et la multiplicité des maladies métaboliques impliquent une collaboration entre ces différents centres qui doivent accepter d'étudier les cellules cultivées dans d'autres laboratoires. Ces relations inter-laboratoires sont déjà réalisées par l'échange de souches de cellules mutantes pour ces maladies rares, prouvant l'intérêt des banques cellulaires. Les cellules ainsi stockées sont susceptibles d'être remises en culture dans les conditions initiales à tout instant. Les souches cellulaires conservées en banque et utilisées lors du diagnostic prénatal des maladies métaboliques sont celles dont l'anomalie enzymatique a été caractérisée. Elles serviront de marqueur pour un diagnostic ultérieur.

Nous ne pouvons envisager ici toutes les techniques adaptées aux diverses maladies. Nous nous contenterons d'exposer les points importants de la recherche d'une maladie métabolique. :

- la culture cellulaire est analysée pour un diagnostic sélectif par adjonction d'un substrat toujours couplé à une molécule fluorescente permettant un dosage quantitatif par fluorimétrie.
- un diagnostic de déficit enzymatique ne peut être établi en toute sécurité que si la détermination de l'activité enzymatique est faite simultanément dans les cellules amniotiques à analyser et dans des cellules de référence au même stade d'évolution et cultivées dans les mêmes conditions.
- Le taux trouvé sera à comparer avec le taux du premier enfant malade, qui a motivé la consultation et qui est donc homozygote, et avec le taux des parents qui eux, sont hétérozygotes. Il est des cas où la maladie n'est pas une transmission génique mais une mutation spontanée ; les parents sont homozygotes sains et l'enfant est homozygote malade ; pour l'interprétation du taux enzymatique obtenu à partir de la culture de cellules, il devra être comparé au taux d'hétérozygote sain d'une autre famille (ce cas montre tout l'intérêt des banques cellulaires, puisque des cultures d'hétérozygote concernant la même maladie devront être décongelées).
- Lorsqu'il s'agit d'une maladie métabolique liée à l'X identifiable :
 - . un garçon sur deux sera atteint avec des taux d'homozygotes.
 - . une fille sur deux sera porteuse saine avec des taux d'hétérozygote. Si on recherche l'hétérozygotisme d'une fille à naître on peut utiliser deux méthodes :

- * soit le dosage quantitatif d'enzyme ;
- * soit la technique de "clonage". Sur la culture il y a deux sortes de cellules :
 - . des normales correspondant à l'X inactivé
 - . des atteintes correspondant à l'X actif et portant la mutation.On tente alors de sélectionner une cellule de chaque pour obtenir des clones sains ou malades.

En ce qui concerne nos indications, et nos résultats, se reporter au chapitre indication des maladies géniques).

5

INCIDENTS - ACCIDENTS

5.1 - LES INCIDENTS (TABLEAU N° 34)

Nous ferons une distinction entre :

- les incidents relatifs à la ponction.
- les incidents du diagnostic prénatal.

5.1.1 - INCIDENTS RELATIFS A LA PONCTION

Nous rappelons dans ce paragraphe deux termes :

- la ponction : correspond au geste unique de piquer.
- la tentative : séance au cours de laquelle on recueille le liquide amniotique et qui peut nécessiter une ou plusieurs ponctions. Si il y a échec total une nouvelle tentative sera faite quelques jours plus tard.

5.1.1.1 - LES LIQUIDES AMNIOTIQUES "NON CLAIRS"

Physiologiquement la couleur du liquide amniotique est claire ; nous considérons comme anormaux tous les liquides "non clairs".

Notre étude porte sur 210 ponctions réparties en :

5.1.1.1.1 - 159 liquides clairs parmi lesquels :

- 145 obtenus à la première ponction.
- 13 obtenus lors d'une deuxième tentative à 15 jours d'intervalle de la première, quel que soit le type d'échec et dont le liquide était clair.
- 1 obtenu lors d'une troisième tentative ; les deux premières faites à 15 jours d'intervalle avaient été claires.

Ainsi dans 14 cas le liquide était clair alors qu'il s'agissait d'une deuxième ou troisième tentative prouvant qu'il n'y avait pas eu d'hémorragie intra-amniotique lors de la première ponction.

5.1.1.1.2 - 36 liquides sanglants soit : 16,8 % - dont :

- 22 obtenus à la première tentative :

- . 16 n'ont eu qu'une ponction
 - . 4 en ont eu 2
 - . 1 en a eu 3
 - . 1 en a eu 4.
- 13 obtenus à la deuxième tentative
 - 1 obtenu à la troisième tentative.

En rapportant nos ponctions sanglantes à la localisation placentaire on note (tableau n° 31) :

- 22 placentas antérieurs : 61 %
- 2 placentas antérolatéraux : 6 %
- 8 placentas postérieurs : 22 %
- 4 placentas du fond : 11 %

Il semble bien exister une relation directe entre placenta antérieur ou antérolatéral et ponctions sanglantes : $61 + 6 = 67 \%$

214 ponctions $\Rightarrow$ 36 sanglantes $\Rightarrow$ 16,8 %		
LOCALISATION PLACENTAIRE	NOMBRE	POURCENTAGE
Antérieur	22	61 %
Antérolatéral	2	6 %
Fond	4	11 %
Postérieur	8	22 %

Tableau n° 31 - Relation ponctions sanglantes et localisation placentaire.

Si nous comparons nos chiffres à la littérature (tableau n° 32), nous nous situons au-dessus de la majorité à l'exception de Robinson : 22 %.

A U T E U R S	NOMBRE AMNIOCENTÉSES	LIQUIDES SANGLANTS	POURCENTAGE
DORAN (36)	79	8	10,1
HENRION (64)	300	8	2,8
PRESCOTT (138)	55	0	0
ROBINSON (145)	182	35	22
OGITTA (126)	132	8	6
MILUNSKY (115)	100	13	13
NADLER (117)	370	25	6,8
ALLEN (2)	110	12	11
GERBIE (48)	238	10	4,2
CRANDALL (31)	350	28	8
BURTON (22)	507	31	6
LYON (Croix-Rousse)	214	36	16,8

Tableau n° 32 -

5.1.1.1.3 - 9 liquides "bruns"

On n'en connaît pas la signification mais on a noté qu'en spectrophotométrie on obtient un spectre avec un pic à 405 nanomètres qui correspond au pic de présence de méconium : (serait-ce la présence de biliverdine ?).

En colligeant ces 9 liquides nous n'avons mis en évidence ni troubles biologiques particuliers du liquide amniotique, ni évolution défavorable de la gestation.

Parmi ces 9 liquides bruns :

- 4 ont été obtenus à la première tentative.
- 4 à la deuxième tentative, la première ayant conduit à un échec de culture avec liquide clair.
- 1 à la troisième tentative, les deux précédentes cultures n'ayant pas poussé.

Il n'y a donc pas de corrélation entre le nombre de tentatives et la couleur brune du liquide.

5.1.1.1.4 - deux liquides verdâtres

Pas d'explications.

5.1.1.2 - LES ECHECS DE PONCTION

Dans notre travail nous pouvons analyser 267 amniocentèses dont :

- 36 cas "d'échecs de ponction" mais avec obtention de liquide amniotique lors de la première tentative : soit : 13,4 %.
 - . 18 ont nécessité 2 ponctions.
 - . 16 ont nécessité 3 ponctions.
 - . 2 ont nécessité 4 ponctions.
- 8 cas "d'échec technique complet" (2,9 %) dans lesquels après plusieurs ponctions blanches ou franchement sanglantes nous avons provisoirement renoncé et reconvoqué la patiente pour une nouvelle tentative quelques jours plus tard :
- 1 fois la patiente après échec technique a refusé une deuxième tentative.

Nos résultats comparés à 3 grandes séries sont tout à fait satisfaisants (tableau n° 33).

A U T E U R S	Nombre total d'amniocentèses	Pourcentage d'échec technique
BURTON (22)	507	5
NADLER (117)	370	4,5
HENRION (64)	300	1,3
LYON (Croix-Rousse)	267	2,9

Tableau n° 33 - Pourcentage d'échec technique complet.

5.1.2 - LES INCIDENTS DU DIAGNOSTIC PRENATAL

5.1.2.1 - LES ECHECS DE CULTURE

Nous les avons largement détaillés au chapitre sur la culture cellulaire. Nous rappelons nos résultats :

60 échecs sur 229 cas soit : 26 % dont 6 échecs définitifs.

5.1.2.2 - ERREUR DE SEXE CHROMATINIEN

2 erreurs sur 90 études (cf. : cellules non cultivées).

5.1.2.3 - ERREUR CARYOTYPE :

2 erreurs sur 227 caryotypes foetaux (cf. : résultat sur le caryotype).

5.1.2.4 - HYDRORRHEE :

2 cas sur 193 observations de la clinique obstétricale de la Croix-Rousse.

5.1.2.5 - GROSSESSE GEMELLAIRE :

L'échographie a manqué 2 gemellités sur trois que nous avons dans notre étude. (cf. : échographie).

Nous pourrions citer dans les incidents :

- les hématorrhées mais nous n'en avons aucune du moins sur les patientes qui ont été suivies jusqu'à terme dans le service.
- les contractions utérines post amniocentèses, mais qui sont un signe très subjectif, mal quantifiable et très atténuées par le suppositoire de Salbutamol donné en fin de ponction.

T Y P E S	Nombre total d'observations	Nombre de cas	Pourcentage
liquides sanglants	210	36	16,8
liquides bruns	210	9	4,2
échecs de ponction	267	36	13,4
échecs technique complets	267	8	2,9
échecs de culture	229	60	26 (*)
erreurs de sexe chroma- tinien	90	2	2,2
erreurs de caryotype	227	2	0,8
hydrorrhées	193	2	1,03
grossesses gémellaires non diagnostiquées	3	2	66,6

(*) dont 6 seulement définitifs)

Tableau n° 34 - INCIDENTS.

5.2 - LES ACCIDENTS (TABLEAU N° 37).

5.2.1 - FAUSSES COUCHES

Nous rapportons sur nos 237 observations, quatre fausses couches soit : 1,6 %.

5.2.1.1 - EXPOSE DES 4 OBSERVATIONS (TABLEAU N° 35)

5.2.1.1.1 - OBSERVATION N° 164

Amniocentèse pour maladie de Lesh-Nyhan chez une femme sans enfant, sans antécédents de fausse couche antérieure. Il y eut 2 tentatives pour échec de culture et une seule ponction par tentative ramenant chaque fois un liquide clair.

La fausse couche a eu lieu spontanément 12 jours après la ponction.

5.2.1.1.2 - OBSERVATION N° 271

Amniocentèse pour âge maternel (38 ans), et antécédents de trisomie 21. Pas de fausse couche antérieure. Il y eut deux tentatives pour échec de culture avec une seule ponction par tentative et ramenant chaque fois un liquide clair. La fausse couche a eu lieu spontanément 15 jours après la ponction.

5.2.1.1.3 - OBSERVATION N° 726

Amniocentèse pour âge maternel (41 ans) ; pas de fausse couche antérieure. Il y eut une seule tentative avec une seule ponction mais un liquide sanglant. La fausse couche a eu lieu spontanément 12 jours après la ponction.

5.2.1.1.4 - OBSERVATION N° 728

Amniocentèse pour âge maternel (39 ans) ; pas d'enfant, pas de fausse couche antérieure. Il y eut 2 tentatives pour échec de culture dont 2 ponctions lors de la première et une lors de la deuxième. A chaque ponction le liquide était sanglant.

La fausse couche a eu lieu spontanément sur grossesse arrêtée 13 jours après la ponction.

N° d'OBS.	4 fausses couches spontanées après amniocentèse sur 237 cas : 1,6 %			
	I N D I C A T I O N	NOMBRE de TENTATIVES	couleur du liquide	Délai depuis la ponction
164	LESH NYHAN	2 échec culture	clair	12 jours
271	Age maternel (38 ans) + T 21	2 échec culture	clair	15 jours
726	Age maternel (41 ans)	1	sanglant	3 jours
728	Age maternel (39 ans)	2 échec culture	sanglant	13 jours

Tableau n° 35

5.2.1.2 - COMMENTAIRES

- 3 des fausses couches ont subi 2 tentatives pour échec de culture.
- 2 des fausses couches avaient présenté un liquide sanglant.
- Le délai entre ponction et fausse couche est compris entre 3 et 15 jours.
- 3 des fausses couches ont eu lieu chez des parturientes âgées.

Il paraît difficile de tirer des conclusions de ces différentes données mais on peut néanmoins admettre :

- . il n'y a pas de relation entre ces fausses couches et des antécédents d'avortements spontanés antérieurs ou des béances de l'isthme.
- . nos 4 observations sont des fausses couches précoces apparues avant la 3ème semaine.
- . l'âge maternel semble par contre un facteur essentiel ; en effet trois fois sur quatre il s'agit de femmes de plus de 38 ans.

ROBINSON (145) qui, sur 128 amniocentèses a 7,5 % d'avortements spontanés, essaie de montrer que la relation avec l'âge maternel est indiscutable. Chez les parturientes âgées non soumises à l'amniocentèse le taux de fausses couches spontanées est double après 38 ans de celui des femmes de 20 à 25 ans. De plus si sur ses 128 observations il y eut 7,5 % de FCS après ponction, l'auteur note que 11 %

se sont produites juste avant que l'amniocentèse soit pratiquée et surtout chez les primipares âgées. CRANDALL (31) qui rapporte 0,85 % de FCS après ponction sur 350 cas, donne 2 % d'avortements spontanés avant la ponction.

HORGER (77) étudie 440 grossesses chez des femmes de plus de 40 ans, la plus âgée ayant 54 ans ; dans ce lot il y avait 2 % de nullipare et 30,7 % de multipare dont la parité dépassait 10 ; il publie 46 FCS soit 11,7 % (on exclut des 440 grossesses, 47 demandes d'avortement volontaire).

5.2.1.3 - RELATION PONCTION - FCS.

Nous avons relaté précédemment que dans 3 cas sur 4, deux tentatives ont été nécessaires ; mais cette constatation ne paraît pas suffisante pour envisager une relation cause à effet puisque nous avons 68 fois pratiqué 2 ou même 3 tentatives.

Etude séparée des quatre FCS :

- dans un cas nous avons connaissance de la FCS mais sans explication.
- dans un cas, 15 jours après la ponction sont apparues des contractions utérines ouvrant le col, faisant bomber la poche des eaux et entraînant une expulsion. Nous n'avons aucun détail sur l'état du fœtus.
- dans un cas, 13 jours après la 2ème tentative qui avait retiré un liquide rouge-noirâtre avec des bruits du cœur bien perçus, la vitalité foetale a été contrôlée à titre systématique révélant la mort foetale. Il n'y avait pas de lésions foetales.
- dans un cas, la relation mort foetale et ponction est "certaine". La FCS s'est produite 3 jours après la ponction, et le fœtus présentait un hématome crânien pariétal gauche.

Nous imputons avec certitude 1 seul cas de FCS à la ponction sur 237 amniocentèses soit : 0,42 %.

A l'occasion de ces accidents de FCS, nous signifions l'attitude de la clinique obstétricale de la Croix-Rousse pour des femmes présentant un risque d'avortement spontané (béance de l'isthme, antécédents de FCS à répétition...). Un cerclage est pratiqué 5 à 6 jours avant la ponction, associé à un traitement par bêta-mimétique. Dans notre expérience, 3 femmes ont été cerclées à 16 semaines et ont subi une amniocentèse avec des suites très simples.

5.2.1.4 - ANALYSE DE LA LITTERATURE

Nous comparons dans le tableau n° 36 nos résultats à ceux de grandes séries :

Milunsky (114) qui rapporte 1 633 observations publie 1,6 % de FCS, chiffre qui correspond au nôtre.

A U T E U R S	Nombre de cas	Nombre de FCS		Pourcentage
		précoce	tardive	
NADLER (117)	331	-	1	0,3 %
MILUNSKY (114)	1 633	9	18	1,6 %
GERBIE (48)	238	-	1	0,4 %
LINDSTEN (96)	167	3	2	2,9 %
HENRION (64)	300	2	-	0,6 %
ROBINSON (145)	128	4	6	7,8 %
CRANDALL (31)	350	2	1	0,85 %
LYON	237	4	-	1,6 %

Tableau n° 36 -

5.2.2 - L'HEMORRAGIE FOETO-MATERNELLE TRANSPLACENTAIRE

Parmi les accidents de l'amniocentèse il semble bien que ce soit le plus sérieux et qu'il représente le risque le plus réel (tableau n° 37).

Dans notre série nous avons fait systématiquement avant et après ponction une recherche d'érythrocytes foetaux dans le sang maternel (test de KLEIHAUER) quel que soit le groupe sanguin de la mère.

Le deuxième prélèvement de sang chez la mère était fait entre une demi-heure et deux heures après la ponction, ce qui paraît largement suffisant pour pratiquer un examen juste et fiable.

Ces deux recherches faites à titre expérimental, systématiquement, avaient deux buts :

- mettre en évidence une relation entre ponction et hémorragie transplacentaire, surtout si le liquide retiré avait été sanglant.
- considérer plus attentivement les femmes rhésus négatif chez qui le test de Kleihauer s'est positivé afin de leur injecter des gamma globulines anti D.

5.2.2.1 - TECHNIQUES

Le prélèvement sanguin maternel se fait sur héparine et est adressé au centre de transfusion sanguine de l'hôpital Edouard Herriot à Lyon.

Chaque échantillon de sang est soumis à une centrifugation. (10 minutes à 4 000 tours) et l'hématocrite ajusté à 40 %. On réalise un étalement sur lame puis une élution acide dans un tampon à pH : 3,3 avec coloration au May Grunwald-Giemsa, puis une lecture au microscope à contraste de phase.

La numération des érythrocytes foetaux se fait en recherchant les cellules réfringentes (n) sur 5 bandes longitudinales de 35 mm de long, légèrement décalées l'une par rapport à l'autre dans le sens de la largeur de la lame. Le nombre théorique d'érythrocytes (N) balayés dans les conditions de l'examen est établi après étalonnage et sur chaque lame on calcule la densité moyenne en érythrocytes par comptage sur une dizaine de champs oculaires.

Les résultats sont alors exprimés en nombre d'érythrocytes foetaux pour 1 000 érythrocytes maternels selon la formule : Nous utiliserons l'abréviation internationale pour érythrocyte : "Ercs" et "F" pour foetal et "M" pour maternel.

$$\text{Ercs F} = \frac{n \times \text{densité à l'étalonnage} \times 1000}{N \times \text{densité sur la lame observée}} \% \text{ Ercs M}$$

Le calcul de ce nombre d'Ercs F permet d'établir une autre forme de résultat plus facile à manier en "volume" correspondant à la quantité en millilitres de sang foetal passée dans la circulation maternelle. On doit alors admettre que le volume de sang maternel est de l'ordre de 5 litres.

$$\text{Volume du sang foetal} = \frac{n \times \text{densité à l'étalonnage} \times 5000}{N \times \text{densité sur la lame observée}} \text{ ml}$$

Le centre de transfusion donne donc le résultat soit :

- en érythrocytes foetaux pour 1 000 érythrocytes maternels.
- en millilitres de sang foetal passé dans la circulation maternelle.

5.2.2.2 - DISCUSSION

Les publications concernant la survenue d'hémorragie foeto-maternelle ne sont pas nombreuses.

Henrion (65) rapporte 38 cas sur 273 amniocentèses soit 14 %. D'après l'auteur ce pourcentage correspond à celui donné dans la littérature :

QUEENAN et coll. (140) sur 202 amniocentèses rapportent 12,4 %.

BLAJCHMAN et coll. (8) rapportent 15 %.

Par opposition, ces chiffres sont supérieurs à ceux accordés aux amniocentèses tardives, à savoir :

BOWMAN et POLLOCK (14) sur 402 cas rapportent 12 %.

PEEDLE (133) sur 410 cas : 11 %.

BLAJCHMAN et coll. (8) sur 113 cas : 6 %.

Dans la statistique d'Henrion le volume de sang foetal transfusé varie entre 0,25 et 4,50 millilitres. D'après tous les auteurs ces microtransfusions ne peuvent pas mettre la vie du foetus en danger, mais sont capables d'induire une immunisation anti-rhésus ou son aggravation chez une patiente rhésus négatif.

HENRY (69) propose donc de considérer les ponctions amniotiques chez les femmes rhésus négatif, comme l'accouchement d'un enfant rhésus positif ou comme un avortement spontané ou volontaire ; la sanction thérapeutique s'impose, sous forme d'injection de gamma globulines anti D.

En pratique la prévention du passage transplacentaire est difficile car celui-ci se produit aussi bien dans le cas de placenta postérieur que dans le cas où le liquide prélevé a un aspect clair.

Chez les auteurs l'accord est fait sur une plus grande probabilité de microtransfusions de sang foetal si le placenta est antérieur (surtout si il a été traversé) ou si le liquide est sanglant, d'où l'intérêt déjà admis par tous de la localisation placentaire préalable.

5.2.2.3 - RESULTATS

Nous avons fait des tests de Kleihauer systématiques pré- et post-amniocentèse à 146 gestantes. Nous avons mis en évidence 26 cas positifs soit : 17,8 %. Nos tests de Kleihauer positifs sont ceux qui nous ont été rendus par le laboratoire comme "non nuls" ; mais ainsi que nous le verrons, certains se sont positivés après la ponction, d'autres ont augmenté leur positivité, d'autres enfin déjà positifs avant ponction sont restés stables.

Sur les 26 échantillons :

- 17 ont été trouvés positifs lors de la première tentative dont :
 - . 4 seulement, nuls avant la ponction se sont positivés après avec des passages transplacentaires de 0,1 à 0,5 ml de sang foetal.
 - . 7 étaient déjà positifs avant la ponction à des valeurs de 0,1 à 0,5 ml, et la positivité est restée stable après amniocentèse.
 - . 6 déjà positifs avant ponction ont accentué cette positivité prouvant la microtransfusion transplacentaire après ponction.

En fait sur les 17, 10 assurent que la première ponction a effectivement entraîné un passage transplacentaire.

- 9 ont été trouvés positifs lors de la deuxième tentative, alors que les tests de Kleihauer de début et fin de ponction de la première tentative étaient négatifs. Sur ces 9 :
 - . 4 de nuls avant la ponction se sont positivés.
 - . 5 avaient une positivité avant ponction et ne l'ont pas aggravée.

Dans ce groupe, il n'y a que 4 certitudes de microtransfusions en rapport avec la ponction.

En résumé sur nos 26 tests de Kleihauer positifs, nous pouvons incriminer l'amniocentèse 14 fois soit : 53,8 % des tests positifs mais seulement 9,5 % sur les 146 cas.

Le risque d'hémorragie foeto-maternelle est bien à la fois latent et patent même s'il s'agit de volume faible. Le corollaire de ces expériences est donc la nécessité absolue de pratiquer une injection systématique de 80 microgrammes de gammaglobulines anti-D à toute femme rhésus négatif subissant une amniocentèse précoce.

5.2.2.4 - RELATION ENTRE UN TEST DE KLEIHauer POSITIF ET L'ASPECT DU LIQUIDE OU LA LOCALISATION PLACENTAIRE.

Sur les 14 tests positifs nous avons retenu :

- 10 liquides clairs pour seulement 4 liquides sanglants.
- 6 placentas postérieurs pour 8 antérieurs.

Le nombre de cas est trop faible pour tirer des conclusions formelles, mais l'aspect sanglant du liquide paraît moins important à considérer que la topographie antérieure du placenta qui même sans hémorragie macroscopique dans le liquide amniotique, peut être lésé et favoriser une microtransfusion transplacentaire.

N O M B R E E T T Y P E S D ' A C C I D E N T S				
T Y P E S	Nombre de cas étudiés	Nombre d'ac- cidents	%	Commentaires
Fausses couches spontanées	237	4	1,6	1 seule a été prouvée induite par la ponc- tion.
Test de KLEIHAUER POSITIFS	146	26	17,8	Sur les 26 cas posi- tifs : 14 seulement ont été positivés par la ponction soit : 9,5 %

Tableau n° 37 - Nombre et type d'accidents dans
notre travail.

5.2.3 - LES AUTRES ACCIDENTS

Il s'agit essentiellement de :

- l'infection amniotique.
- la rupture des membranes.

Nous n'en avons observé aucun cas, et ils sont exceptionnels chez les auteurs même pour ceux qui ont les plus grandes séries d'amniocentèses.

Nous relaterons la publication un peu extraordinaire de REHDER (143).

Il s'agit d'une femme de 35 ans, primipare, dont l'amniocentèse est pratiquée à 16 semaines et a nécessité 3 ponctions lors de la tentative pour ramener un liquide sanglant. Le caryotype et l'AFP sont normaux. Après la ponction il est noté un écoulement de liquide amniotique qui fait hospitaliser la patiente durant 4 semaines jusqu'à cessation de l'écoulement. Elle est réhospitalisée pendant 5 semaines pour une rupture franche de la poche des eaux. Ainsi, 12 semaines après la ponction, elle accouche à 28 semaines d'un prématuré malformé ; il présente une amputation des deux avant-bras, d'une jambe et des anomalies bucconasales. Les auteurs incriminent la ponction :

- directement en ce qui concerne les lésions de la face, dues au traumatisme de l'aiguille.
- indirectement pour les amputations en les expliquant par la rupture des membranes, l'oligoamnios et la formation de brides amniotiques.

L'auteur conclut en rappelant la notion d'exception de cet accident, mais demande aux spécialistes de la garder à l'esprit.

6

CONSEQUENCES DU DIAGNOSTIC ANTENATAL

On ne peut faire de diagnostic anténatal sans envisager auparavant les conséquences et sans en assurer éventuellement les suites :

- l'interruption de grossesse après la découverte d'une anomalie.
- l'évolution de la grossesse sur un enfant "atteint".
- l'évolution de la grossesse sur un enfant "supposé sain".

6.1 - L'INTERRUPTION DE GROSSESSE

6.1.1 - EXPOSE DES OBSERVATIONS

Sur les 237 observations il a été pratiqué 8 avortements soit : 3,37 %.

6.1.1.1 - Madame PRU... (n° 21 497 - dossier Croix-Rousse).

- 1er enfant atteint de maladie de HURLER en 1969.
- 2ème grossesse en 1974 ; la ponction répond : enfant sain ; il naîtra et sera vérifié sain.
- 3ème grossesse en 1977 : celle de notre étude ; le liquide amniotique envoyé à Rotterdam fait porter le diagnostic de Hurler. Une interruption est pratiquée et le foetus a été vérifié malade.

6.1.1.2 - Madame WIK... (n° 224)

- 1er enfant décédé après accouchement prématuré à 6 mois 1/2.
- 2ème enfant a vécu 18 mois et est décédé d'un syndrome ORO-FACIO-DIGITAL de type I.
- 3ème grossesse : le caryotype est 46 XX or (cf. : indication) une fille sur deux pouvant être atteinte, la mère demande une interruption pratiquée à St Etienne.

6.1.1.3 - Madame BOU... (n° 200)

- 1er enfant en 1971, atteint de MANNOSIDOSE.
- 2ème enfant en 1972 atteint de Mannosidose.
- 3ème grossesse en 1976 : la culture de cellules et l'analyse biochimique révèle que le foetus est atteint ; interruption, foetus vérifié et confirmé porteur.

6.1.1.4 - Madame PLA... (n° 239)

- pas d'enfants, mais la mère a 5 frères atteints de myopathie de Becker. Les examens de la postulante la révèle conductrice. Comme il

s'agit d'une maladie liée à l'X, un caryotype est fait : 46 XY. Un garçon sur deux pouvant être atteint, une interruption a été pratiquée - pas de vérification.

6.1.1.5 - Madame NEZ... (n° 249)

- 1er enfant : maladie de HURLER.
- 2ème grossesse : l'analyse du liquide amniotique montre qu'il s'agit d'un foetus de sexe féminin homozygote malade ; interruption et vérification, confirmation.

6.1.1.6 - Madame BRE... (n° 203).

Elle a un frère porteur d'une "translocation non équilibrée 4 - 9". Son caryotype révèle qu'elle est transloquée 4 - 9 équilibrée. La ponction permet un caryotype foetal de "translocation non équilibrée". Interruption, vérification, confirmation.

6.1.1.7 - Madame POC... (n° 193)

Indication pour âge maternel. Caryotypes des parents normaux. Caryotype du liquide amniotique : 47 XX t 21 ; la patiente est reconvoquée pour envisager l'interruption ; on découvre alors que la grossesse est arrêtée : dilatation, curetage ; vérification du foetus : 47 XX t 21.

Cette femme a refait une grossesse et naissance d'un enfant normal.

6.1.1.8 - Madame CUQ... (n° 682)

Elle a un enfant vivant et demande un diagnostic anténatal pour âge maternel : 42 ans. Les caryotypes des parents sont normaux mais celui sur le liquide amniotique répond : 47 XY trisomie 17. Une interruption est pratiquée et l'enfant sera vérifié 46 XY (cf. commentaires dans le chapitre sur caryotype : erreurs).

Nos indications se répartissent donc en :

- 5 maladies géniques dont 2 liées à l'X.
 - . 2 HURLER
 - . 1 MANNOSIDOSE
 - . 1 myopathie de BECKER
 - . 1 syndrome oro-facio-digital.
- 3 anomalies chromosomiques :
 - . 1 translocation non équilibrée (4 - 9).
 - . 1 trisomie 21.
 - . 1 fausse trisomie 17.

6.1.2 - TECHNIQUES DE L'INTERRUPTION

Sur les 8 avortements, nous avons le détail de la technique seulement pour 5 (trois ayant été pratiqués hors C.H.U.).

6.1.2.1 - HYSTEROTOMIE (n° 682)

Il s'agissait d'une femme ayant déjà subi une césarienne antérieure.

6.1.2.2 - INJECTION INTRAAMNIOTIQUE D'UREE

Nous en avons 2 cas. Dans un premier temps, par ponction, on retire 200 ml de liquide amniotique qu'on remplace par une solution d'urée à 30 % dans du Mannitol.

6.1.2.2.1 - OBSERVATION n° 239

Pour cette patiente une perfusion de Syntocynon a été mise en place et l'avortement a été obtenu en 36 heures.

6.1.2.2.2 - OBSERVATION N° 203

Pour cette patiente, les contractions utérines sont apparues 5 heures après l'injection associées à des hémorragies utérines importantes dues à des troubles sévères de la coagulation (fibrinogène à 0,45 ; prothrombine à 15 % ; plaquettes à 100 000) ; des perfusions de 6 flacons de sang, de PPSB, de fibrinogène ont dû être mises en oeuvre. Devant ces complications sévères et après avoir amélioré le bilan de coagulation, une hystérotomie a été pratiquée. La patiente a été mutée dans un centre spécialisé de réanimation et est sortie après un mois d'hospitalisation.

6.1.2.3 - INFUSION EXTRAAMNIOTIQUE DE SERUM SALE A 9 %. (N° 249)

Une sonde de Folley n° 16 est enfoncée dans l'orifice cervical et le ballonnet est gonflé ; une perfusion de sérum salé à 9 % à raison de 16 gouttes par minute est installée, associée à une perfusion de Syntocynon avec 20 unités dans 500 ml de sérum et un débit de 20 gouttes par minute.

L'expulsion a eu lieu sans problème 10 heures après le début de l'opération.

6.1.3 - COMMENTAIRES

Ces interruptions ont été pratiquées entre 20 et 23 semaines. Ce sont des interventions difficiles et dangereuses. Notre choix est actuellement fait parmi toutes les techniques utilisées : perfusion extraamniotique de sérum salé.

Sur les quatre cas de la clinique obstétricale nous aurions pu perdre une patiente de troubles de la crase sanguine.

De cette malheureuse expérience, on doit retenir que ces avortements tardifs ne doivent être pratiqués que dans des centres hospitaliers bien équipés, capables d'assurer une surveillance stricte et continue et de parer rapidement tant par un traitement médical bien adapté que chirurgical aux éventuelles complications gravissimes qui peuvent être engendrées par la technique.

6.2 - EVOLUTION DE LA GROSSESSE SUR ENFANT "ATTEINT"

Nous n'avons à relater que deux observations :

- celle d'une primipare âgée chez qui l'amniocentèse a fait découvrir un foetus porteur d'une anomalie chromosomique : 47 XXY (Klinefelter). La femme a désiré garder sa grossesse après un entretien avec les généticiens, et elle a accouché d'un enfant vérifié : 47 XXY.
- celle d'une nullipare conductrice de myopathie de Duchenne qui lors du résultat du caryotype type 46 XY avait déjà senti bouger son enfant. Elle a décidé de garder sa grossesse prenant donc un risque sur deux d'avoir un enfant atteint. Cette patiente vient d'accoucher et les dosages de créatinine phosphokinase (CPK) ont été faits sur le sang foetal révélant que ce garçon est "sain".

Cette observation unique dans notre travail ne peut influencer la thèse ni des protagonistes ni dans antagonistes du dépistage prénatal, mais il est certain qu'elle doit faire "réfléchir" sans pour cela apporter de solution.

6.3 - EVOLUTION DE LA GROSSESSE SUR ENFANT "SUPPOSE SAIN"

En entrée en matière de ce paragraphe, nous tenons à expliquer le terme de "supposé sain". En effet 227 fois sur 237 (la différence de 10 concerne les 8 avortements et les 2 cas précédents), nous avons rassuré le couple après les résultats de la ponction. Nous n'avons pas eu à déplorer d'ennuis diagnostics malgré nos 2 erreurs ; ceci amène à dire la nécessité absolue après ces longues démarches du diagnostic anténatal de faire une vérification à la naissance qu'elle soit biologique ou chromosomique, même si l'examen pédiatrique basé sur des constatations morphologiques et physiologiques paraît normal.

Nous proposons quelques résultats de l'évolution des grossesses après amniocentèses.

Nous rappelons que nos 237 cas correspondent à des diagnostics anténataux pratiqués dans la ville de Lyon sur une période de 3 ans. Ils ont donc été recensés dans des services hospitaliers très divers et même dans des cliniques privées. De plus la majorité des femmes étaient adressées par des accoucheurs installés hors de Lyon, qui ont malheureusement rarement pris la peine de nous faire part des suites obstétricales sur le formulaire qui leur était fourni.

Il n'y a donc, en ce qui concerne l'accouchement, que 100 dossiers complets.

6.3.1 - LES CESARIENNES

Il a été pratiqué 20 hystérotomies sur les 100 cas soit 20 %, pourcentage bien supérieur à celui des grossesses tout venant.

- 6 pour siège.
- 1 pour rupture spontanée des membranes datant de 48 heures.
- 1 pour décollement placentaire (DPPNI) ; l'enfant est vivant.
- 2 pour césariennes antérieures.
- 1 pour placenta preavia.
- 2 pour iso-immunisation anti-rhésus.
- 6 pour indication non précisée.

Il semble logique d'expliquer ce fort pourcentage de césarienne d'une part par les indications de nécessité, d'autre part par le contexte ; dans ce lot il y a un grand nombre de parturientes âgées et de femmes ayant fait plusieurs fausses couches spontanées. De plus on peut supposer que le fait du diagnostic prénatal a créé une ambiance obstétricale un peu particulière et peut être angoissante, perçue à la fois par la patiente et par l'obstétricien.

Il est bien classique que la grossesse chez la parturiente âgée soit source de pathologie diverse beaucoup plus fréquente que chez la femme jeune. Ce sont toujours des "grossesses à risque".

Nous en apportons ici, la confirmation car nos 20 hystérotomies concernent 14 fois (soit 70 %) des femmes ayant entre 38 et 47 ans :

38 ans :	1
39 ans :	2
40 ans :	3
41 ans :	1
42 ans :	4
44 ans :	1
45 ans :	1
47 ans :	1

HORGER (77) publiant 440 grossesses chez des femmes de plus de 40 ans a un pourcentage de 12,5 % de césarienne soit 50 % de plus que leur taux habituel.

KAJANOJA (82) publie 558 grossesses de femmes de plus de 40 ans, a trouvé 3 fois plus de césarienne que chez les femmes jeunes.

Dans la littérature les auteurs : HIGDON (72), STANTON (155), BIGGS (7) s'accordent tous sur des chiffres de 2 à 3,5 fois plus d'hystérotomie chez la parturiente âgée.

6.3.2 - GROSSESSES PATHOLOGIQUES

- 3 toxémies gravidiques dont une a entraîné la mort foetale in utero.
- 3 cerclages après amniocentèse pour menace de fausse couche.
- 1 décollement du placenta avec enfant vivant.
- 1 rupture prématurée des membranes à 27 semaines sur une gémellaire non diagnostiquée suivie d'accouchement prématuré et décès des jumeaux.
- 2 menaces d'accouchement prématuré enrayées par traitement aux bêta-mimétiques.
- 2 accouchements prématurés à 33 et 34 semaines : enfants en bonne santé.
- 1 mort foetale in utero par noeud du cordon.

6.3.3 - POIDS DES ENFANTS A LA NAISSANCE

Nous avons entrepris d'étudier ce paramètre afin de vérifier si le fait d'une amniocentèse précoce pouvait influencer sur le poids de l'enfant. Sur nos 237 observations, nous ne connaissons ce poids que 59 fois : tableau n° 38.

Comme valeur de référence de nos résultats, nous avons utilisé les travaux de LEROY (92) qui a établi des courbes de poids en fonction de l'âge gestationnel avec 18 122 poids de naissance ; il n'est pas possible d'utiliser les courbes de LUBCHENKO (98) établies d'après 5 635 naissances, car toutes ses valeurs moyennes sont nettement inférieures à celles nationales pour les Etats-Unis, et à celles

des différents auteurs européens.

Age gestationnel en semaines	Nombre de cas	Poids moyen en grammes
35	1	1 750
37	1	3 200
38	4	2 725
39	8	3 113
40	25	3 400
41	15	3 300
42	4	3 340
43	1	3 080

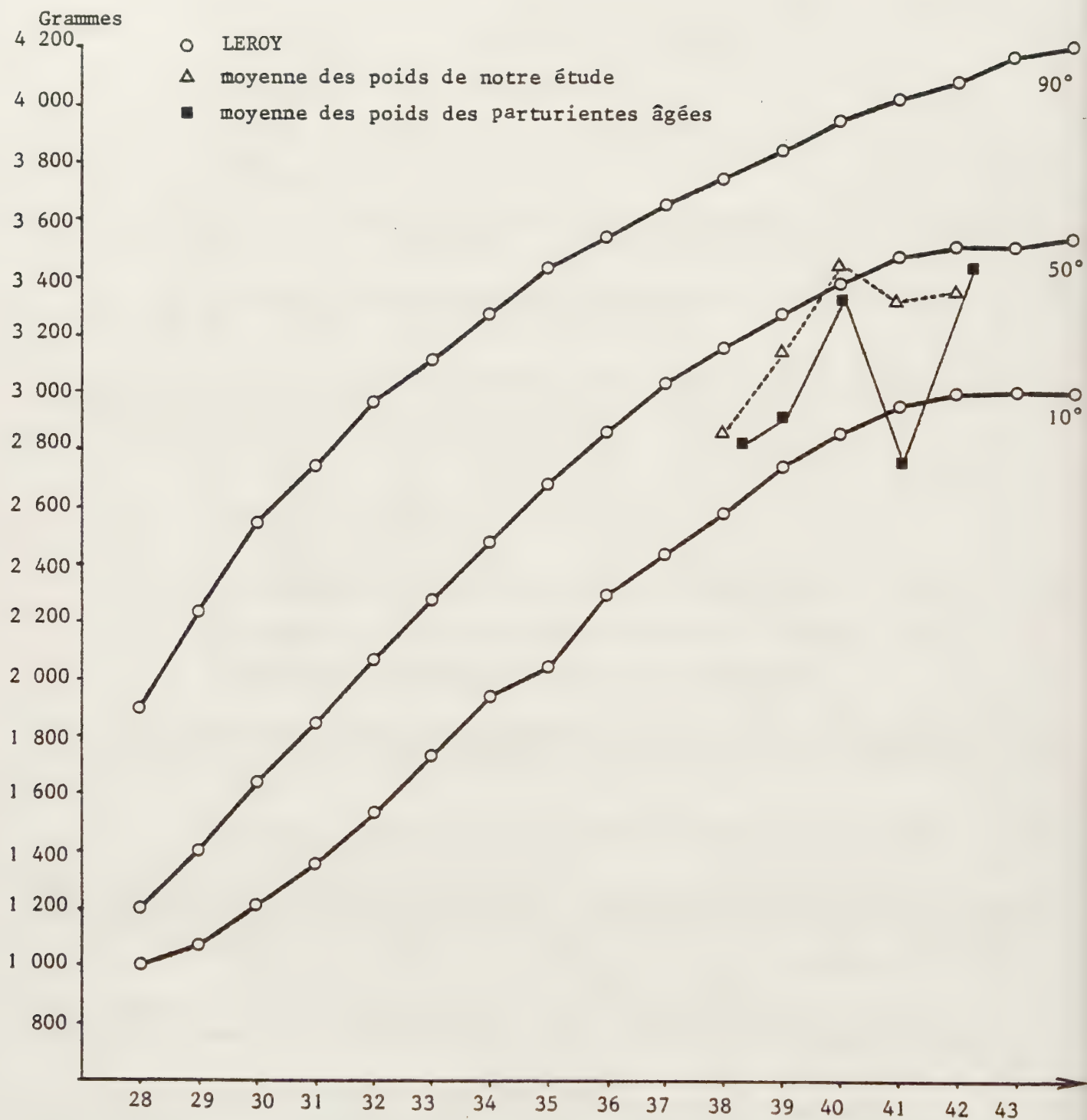
Tableau n° 38 - Poids des enfants à la naissance en fonction de l'âge gestationnel.

Nous avons reporté nos poids moyens sur son diagramme n° 5.

A 38, 39, 41 et 42 semaines de gestation, nos moyennes se trouvent situées entre le 10^e et le 50^e percentiles. A 40 semaines la moyenne correspond au 50^e percentile. Il n'y a pas de différence significative et on peut sans nul doute récriminer toute action de la ponction sur le poids de l'enfant.

Il nous a paru intéressant de scinder parmi nos poids de naissance, ceux des mères de moins et de plus de 40 ans, soit 22 observations dans le tableau n° 39.

Ces moyennes de poids n'ont qu'une faible valeur indicative puisque dans 4 des tranches d'âges nous n'avons que 3 cas ; les valeurs obtenues sont néanmoins légèrement inférieures à celles du lot total et se situent toutes au-dessous du 50^e percentile du diagramme de LEROY (cf. diagramme n° 5).



- Diagramme n° 5 - Normes pondérales à la naissance en fonction de l'âge gestationnel. Courbes des 10° - 50° et 90° percentiles. (d'après LEROY).

Age gestationnel en semaines	Nombre de cas	Poids moyen en grammes
38	3	2 830
39	3	2 900
40	10	3 340
41	3	2 710
42	3	3 410

Tableau n° 39 - Poids moyen à la naissance en fonction de l'âge gestationnel chez les femmes de 40 ans ou plus.

La conclusion ultime sur la conséquence du diagnostic anténatal est l'absolue nécessité, soit après l'interruption de grossesse soit après l'accouchement, de faire une vérification systématique des résultats acquis par l'amniocentèse. On ne doit pas se contenter d'un seul examen morphologique ou pédiatrique. Le dossier ne sera considéré comme complet que s'il contient un contrôle confirmatif ou non.

7

COUT DU DIAGNOSTIC ANTENATAL

Il a été parfaitement étudié dans la thèse de Cuisinier (32).

Actuellement, la sécurité sociale ne rembourse pas les différents actes et examens ; de ce fait chaque laboratoire pratique les examens spécialisés gratuitement sur des budgets d'expérimentation. Depuis quelques mois, la sécurité sociale a proposé au laboratoire de culture cellulaire un forfait de remboursement sur présentation de dossier.

Le coût que nous donnons dans ce travail est celui calculé par Cuisinier en date du 1er juillet 1977 :

- 1 consultation de génétique : CS	39,20 F.
- Amniocentèse :	
. 1 consultation spécialiste : CS	39,20 F
. 1 test de Kleihauer B 10	7,70 F
. 1 échographie K 20 + K 10	159,00 F
. 1 ponction K 15	79,50 F
	285,40 F.
- 2ème test de Kleihauer B 10	7,70 F
- gammaglobulines	65,90 F
	73,60 F.
- culture cellulaire :	
. personnel : laborantine	460,48 F.
auxiliaire de service	134,24 F
. réactifs	84,68 F
. petit matériel	53,81 F
. amortissement gros matériel	15,60 F
. divers	20,00 F
	768,81 F.
- recherche d'une maladie métabolique :	
Le coût est variable suivant la maladie	
exemple :	
. maladie de POMPE	217,13 F.
. maladie de Lesh Nyhan	590,00 F.
- caryotype : B 200	250,00 F.

PERSPECTIVES D'AVENIR

Notre étude a porté sur l'analyse du liquide amniotique afin de découvrir les malformations ou maladies foetales in utero. L'amniocentèse ne permet malheureusement pas de pratiquer tous les diagnostics anténataux ; elle n'est d'aucune utilité pour les affections qui n'ont pas d'expression biologique dans le liquide amniotique ; de même elle n'est pas indispensable pour certaines malformations qui peuvent être mises en évidence par l'utilisation des ultra sons.

Ainsi il existe des techniques à but diagnostic autres que l'amniocentèse :

8.1 - L'ECHOTOMOGRAPHIE

Nous avons vu son rôle essentiel avant de faire une ponction, avec des échographes traditionnels. Actuellement nous pouvons bénéficier de l'échographie en temps réel dont les renseignements sont d'une précision bien supérieure.

Son utilisation peut être envisagée :

8.1.1 - DANS LES MALFORMATIONS DU TUBE NEURAL (66) (5)

- anencéphalie : le diagnostic pouvant en être porté dès la 16ème semaine (24).
- le spina bifida : le dépistage est possible dès la 17ème semaine d'après CAMPBELL (25) (23) ; il apparaît comme une solution de continuité sur les coupes longitudinales ; dès lors des coupes transversales sériées du tronc et de l'abdomen chercheront à mettre en évidence l'image caractéristique "en soucoupe" traduisant le défaut de fermeture de la partie dorsale de l'arc neural.

Ces diagnostics échographiques sont délicats et les erreurs par excès ou par défaut existent ; les auteurs préfèrent donc continuer à coupler leur recherche à celle de l'Alpha foeto protéine (25 - 99 - 23).

Son intérêt préférentiel sera représenté par le lot des malformations du tube neural "fermées" sans expression biologique dans le liquide amniotique.

8.1.2 - MALFORMATIONS DES MEMBRES

L'échographie ne sera pas utilisée pour des diagnostics tels que l'hexadactylie ou agénésie d'un membre, mais elle a servi à certaines recherches de tétraphocomélie.

8.1.3 - MALFORMATIONS RENALES

Elle peut rendre service dans :

- les polykystoses rénales à AFP négative.
- le syndrome de Meckel avec calcul du diamètre abdominal.
- le syndrome néphrotique à gros placenta.

8.1.4 - LES OMPHALOCELES OU LAPAROSCHYSIS

Les échographies permettent d'apprécier l'importance de la perte de substance de paroi.

L'échographie est arrivée à donner des précisions étonnantes, mais elles ne peut à ce jour, être employée comme moyen unique de diagnostic sinon dans de très rares centres hyperspécialisés.

8.2 - LE PRELEVEMENT DE SANG FOETAL

Nous disposons pour l'obtenir de deux techniques :

8.2.1 - LA PONCTION PLACENTAIRE

Elle consiste à introduire sous échographie l'aiguille dans le placenta pour retirer un échantillon sanguin supposé foetal.

En fait cette méthode :

- ne permet pas d'être sélectif quant à l'origine maternelle ou foetale du prélèvement.
- peut induire des hémorragies placentaires avec ses conséquences.
- ne peut être fidèle dans tous les cas.

Tous ces arguments font que les auteurs se sont intéressés à la :

8.2.2 - FOETOSCOPIE

C'est assurément la technique sur laquelle les espoirs sont les plus sérieux. Notre but n'est pas ici ni de décrire la méthode ni d'en donner ses limites ou ses conséquences, aussi nous bornerons-nous à son intérêt dans le diagnostic anténatal.

Décrite par WESTIN (173) en 1954 avec un endoscope de 10 mm de diamètre par voie transcervicale, elle a été perfectionnée par de nombreux auteurs dont VALENTI (168) en 1972 avec son endoamnioscope de 6 mm de diamètre.

SCRIMGEOUR (149) rapporte dans le livre d'EMERY, 28 cas de foetoscopie à l'aide du fibroscope de 2,2 mm de diamètre.

Enfin l'ère moderne débute en 1973 avec HOBBS (73) (74) qui utilise le Needlescope.

L'invention du foetoscope est le fait d'une triple nécessité pour améliorer le diagnostic anténatal.

- observation directe du fœtus pour le diagnostic de malformation externe.
- biopsie de peau fœtale ou d'amnios pour obtenir des cultures cellulaires rapides.
- prélèvement de sang fœtal pour recherche de maladies génétiques sans expression biologique dans le liquide amniotique.

Son utilisation est encore limitée dans le monde où seuls quelques centres en ont la pratique. En effet la foetoscopie n'est pas un geste de routine pour deux raisons :

- elle n'est indispensable que pour un petit nombre d'affections génétiques (hémoglobinopathies, hémophilie, myopathie de Duchenne...).
- elle mérite :
 - . une organisation médicale avec un obstétricien, des biologistes et un échographiste.
 - . un matériel coûteux : foetoscope, échographie en temps réel, analyseur de particules.
 - . une technique délicate qui n'est pas toujours couronnée de succès.

Les premiers essais de foetoscopie ont été pratiqués sur des femmes qui devaient subir une interruption thérapeutique de grossesse ; les expériences ont autorisé les auteurs à établir des taux de normalité ou de pathologie du produit recherché dans le sang fœtal. Ceci est surtout vrai pour la myopathie de Duchenne qui jusqu'à lors ne bénéficiait que du diagnostic du sexe et qui actuellement peut être diagnostiquée par le dosage de la Créatine Kinase dans le sang fœtal.

STENGEL - RUTKOWSKI (156), DUBOWITZ (37), HOBBS (73) (74), MAHONEY (102) ont publié leur expérience dans le dépistage du Duchenne avec son intérêt et ses limites.

DELLAMONICA (34) collige tous ces résultats dans sa thèse consacrée à la myopathie de Duchenne.

Les hémoglobinopathies sont aussi à ce jour reconnues avec succès (74 bis) ou le syndrome d'Ellis van Creveld...

La foetoscopie est une arme médicale de progrès qui, bien que déjà expérimentée n'en est qu'à ses débuts. Son rôle n'est pas de remplacer l'amniocentèse mais de dépasser ses limites.

8.3 - LA RADIOGRAPHIE

La radiographie simple peut être un moyen diagnostic dans les affections qui ont une expression radiologique précoce, notamment les affections à participation osseuse. Si les défauts de structure et de densité des os ne sont pas précocement accessibles, certains défauts malformatifs avec absence régulière d'une pièce osseuse dans le cadre d'une maladie génétique peuvent être mis en évidence : telle l'aplasie radiale d'hérédité récessive autosomique d'une thrombocytopénie. Il faut admettre que l'aplasie radiale est bilatérale et que la présence d'un radius élimine l'affection.

8.4 - METHODES INDIRECTES

Dans ce cadre les progrès du diagnostic anténatal sont liés à une meilleure connaissance de la carte chromosomique en utilisant le LINCKAGE entre :

- d'une part le locus au niveau duquel est déterminée la maladie recherchée qui n'a pas d'expression biologique dans le liquide amniotique ;
- d'autre part, le locus sur lequel est déterminé un caractère biologique s'exprimant dans le liquide amniotique et pouvant servir de marqueur génétique.

Notre propos n'est pas de décrire les principes complexes de la technique, mais nous citerons deux cas de maladie pour lesquelles cette méthode peut être utilisée :

- le couple : glucose 6 phosphate déhydrogénase et hémophilie (15) (40).
- le couple : système HLA et certaines maladies dont l'hyperplasie surrénale congénitale est actuellement le seul exemple (39).

ETHIQUE DU DIAGNOSTIC ANTENATAL

Le diagnostic anténatal n'a pas dix ans et si les techniques l'ont beaucoup amélioré, il semble qu'il soit resté fidèle à ses orientations initiales.

Il apparaît à beaucoup comme une attitude médicale de progrès, mais il reste pour ceux qui s'en occupent un problème de conscience quant à la sanction à envisager dans le cas d'un diagnostic positif.

La décision d'amniocentèse appartient au couple et plus précisément à la femme, mais si elle engage les responsabilités des deux côtés, elle n'engage pas les intéressés à l'avortement du seul fait d'un diagnostic positif ; il existe un contrat médecin-parent par lequel l'équipe médicale accepte d'assurer les conséquences, mais il n'y a pas de contrat parent-médecin ce qui laisse au couple le libre choix de l'avortement.

Le diagnostic anténatal n'est pas une attitude engénique mais doit être considéré comme une prétention nataliste. Il propose à des couples angoissés par des expériences antérieures de les sécuriser dans la grande majorité des cas : 8 diagnostics positifs sur 237 soit dans 96,6 % des cas. Il permet donc à ces couples d'envisager des grossesses en toute sécurité, ou d'éviter d'interrompre des grossesses par crainte de l'incertitude.

LES CONCLUSIONS

Nous rapportons notre expérience du diagnostic anténatal des affections génétiques à partir de l'analyse du liquide amniotique prélevé par amniocentèse. Elle porte sur 237 cas sur 3 ans (1975 - 76 - 77) ; 193 observations proviennent de la clinique obstétricale de la Croix-Rousse (Pr M. DUMONT - Pr Ag. J.M. THOULON).

10.1 - LES 237 INDICATIONS SE REPARTISSENT EN :

- . 83 indications liées à la découverte d'anomalies cyto-génétiques dans la fratrie ou la famille, classées en 8 groupes et qui ont permis la mise en évidence de 20 anomalies chromosomiques parentales.
- . 115 indications pour âge maternel élevé, avec découverte de 5 anomalies parentales.
- . 43 indications pour maladies géniques dont :
 - 4 liées à l'X sans diagnostic spécifique (2 Duchenne, 1 Becker, 1 oro-facio-digital).
 - 10 maladies métaboliques (4 mucopolysaccharidose, 1 gangliosidose à GM₁, 1 mannosidose, 1 maladie de POMPE, 2 LESH-NYHAN, 1 MENKES).
 - 1 syndrome de Meckel.
 - 28 malformations du tube neural.
- . 6 indications discutables.

Cette répartition n'est pas celle habituelle des centres de dépistage.

10.2 - SUR LE PLAN TECHNIQUE :

Il ressort que la ponction doit être effectuée à 17 semaines révolues, que l'échographie est indispensable pour préciser : la localisation placentaire, le bipariétal plus sûr que l'âge anamnétique, le point et l'orientation de la

ponction, la gémellité.

10.3 - LE LIQUIDE AMNIOTIQUE RECUEILLI (25 A 30 ML) A PERMIS :

. une étude du surnageant autorisant :

- à établir une moyenne des taux de protéines totales, de glucose et de créatinine.
- à faire des dosages d'alpha foeto protéine sans que nous n'ayons trouvé d'anomalie pour ces 3 ans ; nous avons pu aussi établir notre normalité en fonction de l'âge gestationnel et surtout de définir nos taux pathologiques à partir d'exemples d'anomalies découvertes en 1974 et 1978.

. une étude des cellules non cultivées avec analyse du sexe chromatinien, de l'Y fluorescent et du test de Kleihauer sur le liquide amniotique faisant la distinction de la part maternelle ou foetale d'un liquide sanglant.

. une étude des cellules cultivées comprenant :

- l'analyse et l'interprétation des caractéristiques du liquide : couleur, aspect et densité cellulaire.
- le calcul de la moyenne du temps de pousse cellulaire trouvée à 17,5 jours ; ce temps semble en relation avec l'âge gestationnel et la densité cellulaire. Une 2ème ponction a été demandée et pratiquée dans 32,2 % des cas dont 26 % pour échec de culture et 6,2 % pour pousse insuffisante au 8ème jour alors que le résultat sera donné à partir de cette première culture.
- l'établissement du caryotype :
le temps de réponse (de la ponction au résultat) a été calculé de 25,3 jours ; il a été amélioré entre 75 et 77 de 4 jours dans sa moyenne, mais c'est surtout sur le temps minimum d'obtention que les progrès ont été les plus nets : passage de 16 à 9 jours.
le caryotype foetal a été trouvé anormal dans 13 cas soit 5,7 % ; (10 translocations équilibrées, 1 Klinefelter, 1 Trisomie 21, 1 translocation non équilibrée). Il n'y a que 3 anomalies non équilibrées dont 2 ont été découvertes lors d'indications pour âge maternel élevé.
Nous publions 2 caryotypes contrôlés "non confirmatifs".

10.4 - LES INCIDENTS SONT MINEURS :

16,8 % de liquides sanglants, 13,4 % ont nécessité 2 ponctions ou plus ; 2,9 % d'échec technique complet à la 1ère tentative ; 2 gémellités sur 3 ont échappé à l'échographie.

10.5 - LES ACCIDENTS CONCERNENT :

- . 4 fausses couches précoces entre le 3^e et le 15^e jour ; 3 étaient des parturientes âgées ; 1 seule est imputable directement à l'amniocentèse.
- . 1'hémorragie transplacentaire : nous avons 17,8 % de test de Kleihauer positifs dont 9,5 % seulement ont été positivés ou ont augmenté leur positivité après la ponction ; il n'y eut aucune conséquence, la prévention par les gammaglobulines ayant été faite systématiquement chez les femmes rhésus négatif.

10.6 - LES CONSEQUENCES :

- . 8 interruptions de grossesse entre 20 et 22 semaines : 5 pour maladies géniques, 3 pour anomalies chromosomiques. Il s'agit d'avortements de technique délicate. Notre choix dans la technique s'est fait sur la perfusion extraamniotique de sérum salé isotonique.
- . 2 grossesses sur enfants atteints.
- . les grossesses après amniocentèse ont mené à 20 % de césarienne, taux confirmé en relation avec l'âge maternel élevé.
Il ne semble pas dans l'état actuel de nos connaissances que l'amniocentèse crée un retentissement sur l'enfant, du moins sur le poids, comme le montre notre étude.

Le Président de la Thèse :

M. DUMONT

Vu, le Doyen de l'U.E.R.
FACULTE DE MEDECINE GRANGE-BLANCHE

B. SALLE

VU et PERMIS d'IMPRIMER
LYON, le 2 octobre 1978

Le Président de l'Université Claude BERNARD
Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,

D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ABRAMOVICH D.R.
The volume of amniotic fluid and factors affecting or regulating this.
Excerpta Medica : Ed. Amsterdam 1973, 30 - 51.
- 2 - ALLEN H.H., SERGOVICH F., POZSONYI J., and al.
Infants undergoing antenatal genetic diagnosis : A preliminary report.
Am. J. obstet. gynecol. 1974, 118, 310 - 313.
- 3 - ARNAL C.J.
Le guidage ultrasonore des amniocentèses précoces : techniques et résultats à propos de 149 cas.
Thèse Médecine Lyon 1977.
- 4 - BANG J., NORTHEVED A.
A new ultrasonic method for transabdominal amniocentesis.
Am. J. obstet.-gynecol. 1972, 114, 599 - 601.
- 5 - BENASSAYAG J.L.
Contribution à l'étude de la séméiologie échographique en gynécologie obstétrique.
Thèse Médecine Paris 1977, 199 - 202.
- 6 - BERHOUNE A.
Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase ; contribution à l'étude du dosage et de la séparation électrophorétique.
Thèse pharmacie Lyon 1973.
- 7 - BIGGS J.S.
Pregnancy at 40 years and over.
Med. J. Aust 1973, 1, 542 - 545.
- 8 - BINGS A.S., WRIGHT E.V.
Amniotic fluid alpha fetoprotein and omphalocele.
Lancet 1976.
- 9 - BLAJCHMAN M.A., MAUDSLEY R.F., USHIDA I., ZIPURSKY A.
Diagnostic amniocentesis and fetal material bleeding.
Lancet 1974, 1, 993 - 994.
- 10 - BONAÏTI - PELLIE C., FEINGOLD J., BRIARD M.L.
Risque de récurrence dans quelques malformations congénitales : Anencéphalie, Spina bifida, fente labiale et palatine.
Arch. Franc. Ped. 1976, 33, 973 - 986.

- 10 - BOUE A., BOUE J.
Le rôle des anomalies chromosomiques dans les échecs de la reproduction.
J. gyn. obst. Biol. Repr. 1977, 6, 5 - 23.
- 11 - BOUE A., NICOLESCO H., RAVISE N., BOUE J.
La culture des cellules du liquide amniotique. Expérience de 750 cultures.
Colloque INSERM 1976, vol. 61, 69 - 79.
- 12 - BOUE J., BOUE A.
L'intérêt en diagnostic prénatal des techniques nouvelles d'identification chromosomique dans les translocations et une aneuploïdie de recombinaison.
Nouv. Press. Med. 1973, 2, 3097 - 3102.
- 13 - BOUE J., BOUE A., DELUCHAT C., THEPOT F.
Pronostic génétique des translocations 14 - 21 dans le cadre du diagnostic prénatal.
Lyon Médical - 1975, 233, 3, 207 - 210.
- 14 - BOWMAN J.M., POLLOCK J.M.
Amniotic fluid spectrophotometry and early delivery in the management of erythroblastosis fetalis.
Pediatrics, 1965, 35, 815 - 832.
- 15 - BOYER S.H., GRAHAM J.B.
Linkage between the X chromosome loci for glucose 6 phosphate dehydrogenase electrophoretic variation and hemophilia A.
Am. J. Hum. genet. 1965, 17, 320 - 324.
- 16 - BRESSON J.L.
Les techniques de Bandes et l'analyse morphologique des chromosomes.
Annales scientifiques de l'Université de Franche-Comté, Besançon 1977.
- 17 - BROCK D.J.
Alpha 2 macroglobulin in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida.
Human Heredity in Press 1976.
- 18 - BROCK D.J., OLSSON J.E.
Comparison of alphafetoprotein and Betatrace protein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida.
Clin. genet. 1976, 9, 385 - 388.
- 19 - BROCK D.J.
Amniotic fluid alpha 2 - macroglobulin and the antenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly.
Clin. genet. 1975, 8, 297.
- 20 - BROCK D., SUTCLIFE R.G.
Alphafetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida.
Lancet 1972, 2, 197 - 199.

- 21 - BRUIJN H. (de), HUISGES H.J.
Omphalocèle and raised alphafetoprotein in amniotic fluid.
Lancet 1975, 1, 525 - 526.
- 22 - BURTON B.K., GERBIE A.B., NADLER H.L.
Present status of intrauterine diagnosis of genetic defects.
Am. J. - obstet. gynecol. 1974, 118, 718 - 734.
- 23 - CAMPBELL S.
Scanning the fetal spina for neural tube defects before 20 weeks gestation.
St Maurice 1975 : journées d'études d'échotomographies en obstétrique et gynécologie.
- 24 - CAMPBELL S., JOHNSTONE F., HOLT E., MAY P.
Anencephaly : early ultrasonic diagnosis and active management.
Lancet 1972, 2, 1226 - 1227.
- 25 - CAMPBELL S., GILLIESON M.
Détection ultrasonore des malformations de l'arc neural.
Edit. GLAXO mars 1975. Hôpit. Esquinol - St Maurice, 211 - 220.
- 26 - CASPERSON T., MODEST F.J.
Fluorescent labeling of chromosomal D N A - Superiority of Quinacrine mustard to quinacrine.
Science 1970, 762, 170.
- 27 - CASPERSON T., SECH L., JOHANNSON C., MODEST E.J.
Identification of human chromosomes by DNA - binding fluorescent agents.
Chromosoma 1970, 30, 215 - 227.
- 28 - CHEMKE J., MISKIN A., RAV-ACHA Z., PORATH A., SAVIG M., KATZ Z.
Prenatal diagnosis of Meckel syndrome : alpha feto protein in amniotic fluid. Clin.
Clin. genet. 1977, 11, 285 - 289.
- 29 - CLARK P.C., GORDON Y.B., KITAU M.J., CHARD T.
Alpha feto protein levels in pregnancies complicated by gastro intestinal abnormalities of the fetus.
Brit. J. obstet. gynaecol. 1977, 84, 285 - 289.
- 30 - COMBET
L'alpha foeto protéine dans le liquide amniotique
Thèse Médecine Lyon 1976.
- 31 - CRANDALL B.F., LEBHERS T.B.
Prenatal genetic diagnosis in 350 Amniocenteses.
Obstet. gynecol. 1976, 48, 158 - 162.
- 32 - CUISINIER D.
Coût, bénéfice du diagnostic prénatal des maladies métaboliques.
Thèse médecine Lyon, 1977.

- 33 - CURTIS J.D., COHEN W.N., RICHERSON H.B., WHITE C.A.
The importance of localization of placental preceeding amniocentesis.
Obstet. gynecol. 1972, 40, 194 - 198.
- 34 - DELLAMONICA C.
Etude de la réaction couplée créatine - Kinase et Luciférine - luciférase.
Application au dépistage systématique néonatal de la myopathie de Duchenne de Boulogne.
Thèse pharmacie Lyon 1978.
- 35 - DIECKMAN W.J., DAVIS M.E., BURGESS F.
Volumetric determination of amniotic fluid with congo red.
Am. J. obstet. gynecol. 1933, 25, 623.
- 36 - DORAN T.A., RUDD N.L., GARDNER H.A.
The antenatal diagnosis of genetic disease.
Am. J. obstet. gynecol. 1974, 118, 314 - 321.
- 37 - DUBOWITZ V., VAN IDDEKINGE B., RODECK C.H., CAMPBELL S., SINGER J.D.
SCHEUERBRANDT G., MOSS D.W.
Prenatal diagnosis in Duchenne muscular dystrophy : salvage of normal male fetus.
The Lancet, 1978, 1, 90.
- 38 - DUMONT M.
Les âges limites de la procréation chez la femme.
Journ. Med. Lyon 1975, 56, 1005 - 1009.
- 39 - DUPONT B., OBERFIELS S.E., SMITHWICK E.M., LEE T.D., LEVINE L.S.
Close genetic linkage between HLA and congenital adrenal hyperplasia (21 hydroxylase deficiency).
Lancet 1977, 2, 1309 - 1312.
- 40 - EDGEELL C.J.S., KIRKMAN H.N., CLEMONS E., BUCHANAN P.D., MILLER C.H.
Prenatal diagnosis by linkage : hemophilia A and polymorphic glucose 6 phosphate dehydrogenase.
Am. J. hum. genet. 1978, 30, 80 - 84.
- 41 - ERICKSON J.D.
Down SYNDROME, paternal age, maternal age and birth order.
Ann. Hum. genet. 1978, 41, 289 - 293.
- 42 - FAUGEROUX A.
Le syndrome de Meckel.
Thèse Médecine Lyon 1974.
- 43 - FERGUSON - SMITH M.A., FERGUSON - SMITH M.E.
The indications for screering for fetal chromosome aberrations.
Colloque INSERM 1976, 61, 81 - 94.
- 44 - FIELD B., KERR C.
Antenatal diagnosis of Neural tube defects.
Lancet 1975, 2, 324 - 325.

- 45 - FUCHS F.
Volume of amniotic fluid at various stage of pregnancy.
Clin. obstet. gynecol. 1966, 9, 449 - 460.
- 46 - GALJAARD H.
Organizational aspects of prenatal analysis.
in BOUE A. éd. INSERM.
Colloque 3 - 5 June 1976 : "Diagnostic prénatal" - Vol. 61, 133 - 140.
- 47 - GEHLER J., CANTZ M., TOLKSDORF M., SPRANGER J., GILBERT E.,
DURBE H.
Mucopolysaccharidosis VII : Béta glucuronidase deficiency.
Human genetk 1974, 23, 149 - 158.
- 48 - GERBIE A.B., NADLER H.L., GERBIE M.V.
Amniocentesis in genetic counseling.
Am. J. obstet. gynecol. 1971, 109, 765 - 770.
- 49 - GIRARD S., RAVINEAU D., SCHRAMM B.
Culture des cellules amniotiques après amniocentèse.
J. Gyn. obst. Biol. Repr. 1974, 3, 5 - 12.
- 50 - GITLIN D.
Norma biology of alpha fetoprotein.
Ann. N-Y. Acad. Sci. 1975, 259, 7 - 16.
- 51 - GITLIN D., BOESMAN M.
Fetus specific serum proteins in several animals and their relation to
human alpha protein.
Comp. - Biochem. physiol. 1967, 21, 327 - 336.
- 52 - GITLIN D., BOESMAN M.
Serum alpha fetoprotein, albumin and gamma G globulin in the human con-
ceptus.
J. Clin. Invest. 1966, 45, 1826 - 1836.
- 53 - GOOSSENS M., BEUSARD Y., ROSA J.
Problèmes biochimiques posés par le diagnostic anténatal des hémoglobino-
pathies.
in BOUE A. éd.
Colloque INSERM 1976 - Diagnostic prénatal, 263 - 269.
- 54 - GROUCHY J., TURLEAU C.
Atlas des maladies chromosomiques.
Expansion scientifique 1977.
- 55 - GUIBAUD P., ROBERT J.M.
Diagnostic anténatal et conseil génétique.
Rev. du prat. 1976, 26, 7, 507 - 515.
- 56 - GUIBAUD P., GUIBAUD S.
Le diagnostic prénatal des affections génétiques.
Lyon méd. 1970, 224, 547 - 561.

- 57 - GUIBAUD S., BONNET M., BONNET H., THOULON J.M., DUMONT M.
Evolution du taux d'alpha foeto protéine dans le liquide amniotique au cours de la grossesse.
Rev. France Gynécol. 1975, 70, 3, 155 - 159.
- 58 - GUIBAUD S., GERMAIN D., DUMONT M.
Diagnostic du sexe foetal in utero par recherche du corpuscule Y fluorescent.
J. gyn. obst. biol. repr. 1973, 2, 5, 503 - 509.
- 59 - GUIBAUD S., BONNET M., KHALIL F., COMBET A., THOULON J.M., DUMONT M.
Glucose concentrations in amniotic fluid from anencephalic pregnancies.
Lancet 1978, 1, 661.
- 60 - GUILLERMAIN G.
Bilan de trente amniocentèses précoces.
Thèse médecine 1975 Lyon.
- 61 - HAHNEMANN N.
Possibility of culturing fetal cells at early stages of pregnancy.
Clinical genetics 1972, 3, 286.
- 62 - HARRIS R., JENNISON R.F., BARSON A.J., LAURENCE K.M., RUOSLATHI E., SEPPALA M.
Comparisons of amniotic fluid and maternal serum alphafetoprotein levels in the early antenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly.
Lancet 1974, 1, 429 - 433.
- 63 - HELLMAN L.M., KOBAYASHI M., FILLISTI L., LAVENHAR M., CROMB E.
Growth and development of the human fetus prior to the twentieth week of gestation.
Am. J. obstet. gynecol. 1969, 103, 789 - 800.
- 64 - HENRION R.
Réflexions sur Amniocentèses à propos de 300 cas personnels.
Colloque INSERM 1976, vol. 61, 45 - 52.
- 65 - HENRION R., SENDER A., CHAVINIE J., PINON F.
Passage des hématies foetales dans la circulation maternelle au cours des amniocentèses précoces : Réalité et évaluation du risque (à propos de 121 cas).
J. gyn. obst. Biol. Repr. 1975, 4, 373 - 378.
- 66 - HENRION R., AUBRY M.C.
Enseignement spécial d'échographie en obstétrique et gynécologie.
Saint Maurice 1977, 110 - 112.
- 67 - HENRION R.
Séméiologie échographique des malformations.
Enseignement spécial d'échographie en obstétrique et gynécologie.
Saint Maurice 1977.

- 68 - HENRION R., CHAVINIE J., LIPSZYC D.
L'amniocentèse précoce à propos de 201 cas.
Nouv. Press. Med. 1974, 3, 2651 - 2656.
- 69 - HENRY G., WEXLER P., ROBINSON A.
Rh - immune globulin after amniocentesis for genetic diagnosis.
Obstet. and gynecol. 1976, 48, 557 - 560.
- 70 - HERS H.G., VAN HOOFF F.
Etudes enzymatiques dans les mucopolysaccharidoses et les sphingolipidoses.
XXIIème congrès de l'association des pédiatres de langue française.
Expansion Sc. 1969, vol. 3, 186.
- 71 - HEYDORN K., DAMSGAARD E., HORN N., MIKKELSEN M., TYGSRUP I., VESTERMARK S., WEBER J.
Extrahepatic storage of copper.
Human genetik 1975, 29, 171 - 175.
- 72 - HIGDON A.
Pregnancy in the women over forty.
Am. J. obstet. gynecol. 1960, 80, 38 - 42.
- 73 - HOBBS J.C., MAHONEY M.J.
Fetal blood drawing.
Lancet 1975, 2, 107 - 109.
- 74 - HOBBS J.C., MAHONEY M., GOLDSTEIN L.A.
New method on intra-uterine evaluation by the combined use of fetoscopy and ultrasound.
Am. J. obstet. gynecol. 1974, 118, 1069 - 1072.
- 74^{bis} - HOBBS J.C., MAHONEY M.J.
In utero diagnosis of hemoglobinopathies.
N. Engl. J. of Med., 1974, 290, 1065 - 1067.
- 75 - HOEHN H., BRYANT E.M., KARP L.E. and al.
Cultivated cells from diagnostic amniocentesis in second trimester pregnancies. I Clonal morphology and growth potential.
Pediat. Research. 1974, 8, 746 - 754.
- 76 - HOLLANDER H.J.
Die ultraschall diagnostik in der schwangerschaft.
Munich, urban und Schwarzenberg 1972.
- 77 - HORGER E.D., SMITHE A.R.
Pregnancy in women over forty.
Obstet. gynecol. 1977, 49, 257 - 261.
- 78 - HUISJES H.J.
Origin of the cells in the liquor amniotic.
Am. J. obstet. gynecol. 1970, 1068 - 1222.

- 79 - JACOBSON C.B., BARTER R.H.
Intrauterine diagnosis and management of genetic defects.
Am. J. obstet. gynecol. 1967, 99, 796 - 807.
- 80 - JOUPPILA P.
Ultrasound in the diagnosis of early pregnancy and its complications. A comparative study of the A - B and Doppler methods.
Acta - obstet - gynecol - scand. 1971, sup. 15, 50, 1 - 56.
- 81 - KATAYAMA K.P., PARK I.J., HELLER R.H., BARAKAT B.Y., PRESTON E., JONES H.W.
Errors of prenatal cytogenetic diagnosis.
Obstet. and gynecol 1974, 44, 693 - 698.
- 82 - KAJANOJA P., WIDHOLM O.
Pregnancy and delivery in women aged 40 and over.
Obstet. gynecol. 1978, 51, 47 - 51.
- 83 - KAN Y.W., GOLBUS M., KLEIN
Successful application of prenatal diagnosis in a pregnancy at risk for homozygous beta thalassemia.
N. Engl. J. med. 1975, 292, 1096.
- 84 - KING C.R., PRESCOTT G.H.
Amniotic fluid alpha fetoprotein elevation with fetal omphalocele and a possible mechanism for its occurrence.
Amer. J. obstet. gynec. 1978, 130, 3, 279 - 283.
- 85 - KJESSLER B., JOHANSSON S.G., SHERMAN M., GUSTAVSON K.H., HULTQUIST G.
Alpha feto protein in antenatal diagnosis of congenital Nephrosis.
Lancet 1975, 1, 432 - 433.
- 86 - KOHN J.
Method for the detection and identification of alpha feto protein in serum.
J. Clin. pathol. 1970, 23, 733 - 735.
- 87 - KRISTENSEN J.K., HOLM H.H., RASMUSSEN J.N. and al.
Ultrasonically guided percutaneous puncture of renal masses.
Scand. J. urol. Nephrol. 1975 - 6 (suppl. 15), 49 - 56.
- 88 - KUNS J., SCHMID J.
Amniotic fluid alpha feto protein and omphalocele.
Lancet 1976, 1, 47.
- 89 - LANDING B.H., SILVERMANN F.N., CRAIG J.M., JACOBY M.D., LAHEY M.E., CHADWICK D.L.
Familial neurovisceral lipiosis.
Amer. J. Dis. child. 1964, 108, 503.
- 90 - LARGET - PIET L., BERTHELOT J., DENIS A., DAVER A., LARGET - PIET A. BEUCHER A., LE MAREC B., LE LIRSIN R., ROUCHY R.
Détection prénatale des affections géniques. Expérience de 317 diagnostics.
Pédiatrie 1977, T. XXXII, 4, 313 - 322.

- 91 - LAURELL G.B.
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies.
Anal. Biochem. 1966, 15, 45.
- 92 - LEROY B., LEFORT F.
A propos du poids et de la taille des nouveaux-nés à la naissance.
Rev. franç. gynéc. 1971, 66, 391 - 396.
- 93 - LEVI S., HERBSMAN F.
Croissance du sac embryonnaire humain étudié par les ultra-sons.
Rev. Fr. gynécol. 1974, 69, 3 - 12.
- 94 - LEVINE S.C., FILLY R.A.
Rap. B-scan (real-time) ultrasonography in the identification and evaluation of twin pregnancies.
Obst. and gynecol. 1978, 51, 170 - 172.
- 95 - LINDSJO A.
Down's syndrome in Sweden.
Acta paediat. scand. 1974, 63, 571 - 576.
- 96 - LINDSTEN J., THERKELSEN A.J., FRIEDRICH U. and al.
Prenatal cytogenetic diagnosis.
Int. J. gynecol. obstet. 1974, 12, 101 - 111.
- 97 - LORBER J., STEWART C.R., MILFORD - WARD A.
Alpha feto protein in antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida.
Lancet 1973, 1, 1187.
- 98 - LUBCHENCO L.O., HANSMAN E., DRESSLER M., BOYD E.
Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight date at 24 to 42 weeks of gestation.
Pediatrics 1963, 32, 798 - 800.
- 99 - MACLER J., RENAUD R.
A propos de 2 cas de malformation foetale céphalique.
Edit. GLAXO 1977, 6, 39 - 43.
Maternité Saint Maurice : soirées échographiques gynéco obstétricales.
- 100 - MACRI J.N., WEISS R.R., JOSHI M.S.
Betatrace proteins and neural tube defects.
Lancet 1974, 1, 1109 - 1111.
- 101 - MAGNIN P., THOULON J.M.
Technique, indications, risques de l'amniocentèse précoce.
Fondation Meyrieux. Edition Lyon 1972. Colloque sur le dépistage anténatal des maladies métaboliques.
- 102 - MAHONEY M.J., HALESTINE F.P., HOBBS J.C., BANKER B.Q., CASKEY C.T.
GOLBUS M.S.
Prenatal diagnosis of Duchenne's muscular dystrophy.
N. Engl. J. Med. 1977, 297, 968-973.

- 103 - MAIRE I., HERMIER M., ZABOT M.J., MATHIEU M., COTTE J.
A propos d'une étude familiale de Mannosidose. Intérêt de l'étude pour le diagnostic prénatal.
in BOUE A. éd. :
Colloque INSERM 1976 : Diagnostic prénatal, 197 - 212.
- 104 - MANCINI G., CARBONARA A.O., HEREMANS J.G.
Immuno chemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.
Immuno chemistry 1965, 2, 235.
- 105 - MATHIEU M., ZABOT M.T., MAIRE I., GUIBAUD P., MONDON G., COTTE J.
Bilan de 4 années d'expérience dans le diagnostic prénatal des maladies métaboliques : aide apportée par la maintenance d'une banque cellulaire.
in BOUE A. éd.
Colloque INSERM 1976 : Diagnostic prénatal ; 183 - 196.
- 106 - MATHIEU M.
Mise en place de l'organisation du diagnostic Anténatal dans la région lyonnaise.
Colloque franco-suédois. Le Vésinet 8 - 9 oct. 1973.
- 107 - MECKE S., PASSARGE E.
Encephalocele, polycystic Kidneys and polydactyly as an autosomal recessive trait simulating certain other disorders : the Meckel syndrome.
Ann. genet. 1971, 14, 2, 97 - 103.
- 108 - MENKES J.H., ALTER M., STEIGLEDER G.K.
A sex linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal cerebral and cerebellar degeneration.
Pediatrics, 1962, 29, 764 - 779.
- 109 - MIKKELSEN M., STENE J.
The effect of maternal age on the incidence of DOWN'S Syndrome.
Human genet. 1972 16, 141 - 146.
- 110 - MILUNSKY A., ALPERT E., CHARLES D.
Amniotic fluid alpha feto protein in anencephaly.
Obstet. gynecol. 1974, 43, 592 - 594.
- 111 - MILUNSKY A., MAGRI J.N., WEISS R.R., ALPERT E., Mc ISAAC D.G., JOSHI M.S.
Prenatal detection of Neural tube defects.
Am. J. obstet. gynecol. 1975, 122, 313 - 315.
- 112 - MILUNSKY A., ALPERT E.
Prenatal diagnosis of Neural tube defects : Analysis of 2 495 cases using the alpha fetoprotein assay.
Obstet. gynec. 1976, Vol. 48, 1, 6 - 12.
- 113 - MILUNSKY A., ALPERT E., FRIGOLETTO F.D., DRISCOLL S.G., Mc CLUSKEY R.T., COLVIN R.B.
Prenatal diagnosis of the congenital nephrotic syndrome.
Pediatrics 1977, vol. 59, 5, 771 - 773.

- 114 - MILUNSKY A.
The prenatal diagnosis of hereditary disorders.
Ch. Thomas Edit. : Springfield 1973.
- 115 - MILUNSKY A., ATKINS L., LITTLEFIELD J.W.
Amniocentesis for prenatal genetic studies.
Obstet. and gynecol. 1972, 40, 104 - 108.
- 116 - MISKIN M., DORAN N., GARDNER H.A., LIEGREN S., BENZIE R.
Use of ultrasound for placental localization in genetic amniocentesis.
Obstet. gynaecol. 1974, 43, 872 - 877.
- 117 - NADLER H.L.
Intrauterine detection of genetic disorders.
in Colloque sur le dépistage anténatal des maladies métaboliques.
Fondation Meyrieux. Edit. Lyon 1972, 21 - 46.
- 118 - NAFFAH J., GHOSN G., GHARIOS N.
A propos de 3 nouveaux cas dans une même fratrie du syndrome de Meckel
ou Dysencéphalie splanchnokystique de GRUBER.
Arch. Franç. Ped. 1972, 29, 1069 - 1081.
- 119 - NELSON M.M.
Amniotic fluid in early pregnancy.
J. obstet. gynecol. Br. Amer. th 1972, 79, 50 - 53.
- 120 - NELSON M.M., RUTTIMAN M.J., BROCK D.J.
Predictive value of amniotic fluid macrophages in gross CNS defects.
Lancet, 1974, 1, 504.
- 121 - NEVIN N.C., NESBITT S., THOMPSON W.
Myelocoele and alpha feto protein in amniotic fluid.
Mancet 1973, 1, 1383.
- 122 - NEVIN N.G., ARMSTRONG M.J.
Raised alpha feto protein levels in amniotic fluid and maternal serum in
a triplet pregnancy in which one fetus had an omphalocele.
Br. J. obstet. gynaec. 1975, 82, 826 - 828.
- 123 - NIERMEIJER M.F., KLEIJER W.J., GALJAARD H.
Prenatal diagnosis of metabolic diseases in 70 pregnancies.
Colloque INSERM 1976, 61, 163 - 173.
- 124 - NISHI S.
Isolation and characterisation of a human fetal alpha globulin from the
sera of fetuses and a hepatoma patient.
Cancer Res. 1970, 30, 2507 - 2513.
- 125 - NUNEZ E., ENGELMANN F., BENASSAYAG C., CREPY O., JAYLE M.F.
Identification et purification préliminaire de la foetoprotéine liant les
oestrogènes dans le sérum de rats nouveaux-nés.
C.R. Acad. Sci. Paris 1971, 273, 242.

- 126 - OGITA S., HASEGAWA H., MATSUMOTO M., KAMEY T., SUGAWA T.
Prenatal diagnosis of genetic anomalies by placenta puncture.
Obstet. gynecol. 1974, 43, 709 - 712.
- 127 - OLOVNIKOV A.M., TSVETKOV V.S.
Detection of the embryonal alpha globulin by the method of aggregate haemagglutination in the sero of patients with human cancer.
Binll. E.K.S.P. Biol. Med. 1969 - 68 - 102 - 104.
- 128 - OLSSON J.E., SHERMAN M.J., KJESSLER B.
Beta-trace protein and neural tube defects.
Lancet 1974, 2, 347 -
- 129 - OPTIZ J., HOWE J.J.
The Meckel Syndrome in congenital malformation syndromes.
Original Article series 1969, VOL; 5, 2, 167 - 179.
- 130 - OUCHTERLONY O.
Antigen antibody reactions in gels.
Arkiv - Kemi - Mineral geol. 1949, 26 B, 14.
- 131 - PARIS Conférence 1971.
Standardisation in human cytogenetics
The national foundation 1972, vol. 8, n° 7.
- 132 - PEDERSEN K.
Fetuin : a new globulin isolated from serum.
Nature, 1944, 154, 575 - 577.
- 133 - PEEDLE L.J.
Increase in antibody titre following amniocentesis.
Am. J. obstet. gynecol. 1968, 100, 567 - 569.
- 134 - PENROSE L.S., SMITH G.F.
Down's anomaly.
London : Churchill 1966.
- 135 - PETIT B.R., KING G.S., BLAU K.
Low glucose concentrations in amniotic fluids from anencephalic pregnancies.
Lancet 1977, 2, 1288.
- 136 - PICKER R.H., ROBERTSON R.D., PENNINGTON J.C., SAUNDERS D.M.
A safe method of amniocentesis for lecithin sphingomyelin determination in late pregnancy using ultrasound.
Obstet. gynecol. 1976, 47, 722 - 724.
- 137 - PLENTL A.A.
Formation and circulation of amniotic fluid.
Clin. obstet. gynecol. 1966, 9, 427 - 439.
- 138 - PRESCOTT G.H., PERNOLL M.L., HECHT F., NICHOLAS A.
A prenatal diagnosis clinic. An initial report.
Am. J. obstet. gynecol. 1973, 116, 942 - 948.

- 139 - QUEENAN J.T., SHAH S., KUBARYCH J.F. HOLLAND B.
Role of induced abortion in rhesus immunisation.
Lancet 1971, 1, 815 - 817.
- 140 - QUEENAN J.T., THOMSON W., WITHPIHLD C.R., SAROY I.S.
Amniotic fluid in normal pregnancy.
Am. J. obstet. gynecol. 1972, 114, 34 - 38.
- 141 - RAMPONE J.P., SANDERS R.C., NIEBYL J.R.
Ultrasonic aspiration transducer for management of Rh incompatibility.
Obst. gynecol. 1974, 43, 780 - 783.
- 142 - REHDER H., WEITZEL H.
Intrauterine amputations after amniocentesis.
Lancet 1978, 1, 382.
- 143 - REHDER H.
Prenatal pathology of the Down's and Edwards syndrome.
Colloque INSERM 3 - 5 june 1976, 61, 117 - 130.
- 144 - ROBERT J.M., JALBERT P., LAURENT J.L., LAURENT C., TROUILLAT P.,
GUIBAUD P.
Génétique III ; gènes et chromosomes anormaux.
Rev. Prat. 1974, 24, 3389 - 3502.
- 145 - ROBINSON A., BOWES W., DROEGEMUELLER W. and al.
Intrauterine diagnosis : potential complications.
Am. J. obstet. gynecol. 1973, 116, 937 - 941.
- 146 - RUOSLATHI E., SEPPALA M.
Studies of carcinofetal proteins : development of a radio immuno assay
for alpha feto protein demonstration in serum of healthy human adults.
Int. J. Cancer 1971, 8, 374.
- 147 - RUTKOWSKI L.S., SCHEUEBRANDT G., BECKMANN R., PONGRATZ D.
Prenatal Diagnosis of Duchenne's muscular dystrophy.
Lancet 1977, 2, 1359 - 1360.
- 148 - SCHWINGER E., WEITZEL H.
Pränatale geochlechtsdiagnostik an Amnionepithel - Sellen mitteleles -
Fluoreszenzmikroskopie.
Geburtsh - Frauenheilk 1972, 32, 20.
- 149 - SCRIMGEOUR J.B.
The antenatal diagnosis of genetic disease.
Emery A.E.H. édit., Churchill Livingstone, Edimbourg 1973, 49 - 58.
- 150 - SELLER M.J., CAMPBELL S., COLTART T., SINGER J.D.
Early termination of anencephaly pregnancy after detection by raised alpha
feto protein levels.
Lancet 1973, 11, 73.

- 151 - SEPPALA M.
Increased alphafetoprotein in amniotic fluid associated with a congenital oesophageal atresia of the fetus.
Obstet. gynecol. 1973, 42, 613 - 614.
- 152 - SEPPALA M.
Fetal pathophysiology of human alpha feto protein.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1975, 259, 59 - 73.
- 153 - SEPPALA M., RUOSLATHI E.
Alpha fetoprotein in amniotic fluid : an index of gestational age.
Am. J. Obstet. gynecol. 1972, 114, 595 - 598.
- 154 - SIMPSON N.E., DALLAIRE L., MILLER J.R., SIMINOUGH L., HAMERTON J.L.
MILLER J., Mac KEEN C.
Prenatal diagnosis of genetic disease in Canada.
Report of a collaborative study on 1 223 cases.
C M A Journal 1976, 115, 739 - 746.
- 155 - STANTON E.
Pregnancy after forty four.
Am. J. obstet. gynecol. 1956, 71, 270 - 284.
- 156 - STENGEL - RUTKOWSKI L., SCHEUERBRANDT G., BECKMANN R., PONGRATZ D.
Prenatal diagnosis of Duchenne's muscular dystrophy.
The Lancet 1977, 2, 1360.
- 157 - STOLL C., RENAUD R., WARTER S.
Avortements spontanés précoces itératifs et translocations familiales.
Lyon Médical 1975, 233, 3, 307 - 309.
- 158 - SUTHERLAND G.R., BAULD R., DOUGLAS BAIN A.
Observations on human amniotic fluid cell strains in serial culture.
Journ. of Medical genetics. 1974, 11, 190 - 195.
- 159 - SUTHERLAND G.R., BROCK D.J., SCRIMGEOUR J.B.
Amniotic fluid macrophages and the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida.
J. Med. genet. 1975, 12, 135 - 137.
- 160 - SVENNER - HOLM L.
List of European laboratories which perform prenatal diagnosis of inherited metabolic disorders.
1976.
- 161 - TAYLOR A.I.
Autosomal trisomy syndromes : A detailed study of 27 cases of Edward's syndrome and 27 cases of Patau's syndrome.
J. med. genet. 1968, 5, 227 - 252.
- 162 - THERKELSEN A.J.
Culture of cells from amniotic fluid.
Colloque INSERM 1976 vol. 61, 55 - 66.

- 163 - THOULON J.M.
Les amniocentèses précoces (avant 20 semaines). Techniques, indications, résultats.
Cah. méd. Lyonnais 1972, 48, 462 - 463.
- 164 - THOULON J.M.
Techniques et complications de l'amniocentèse précoce.
4ème journée de Médecine périnatale : TOURS 1974. Annette Edit. Paris 1975, 425 - 436.
- 165 - THOULON J.M.
La foetoscopie.
J. Gyn. Obst. Biol. Repr. 1976, 5, 1093 - 1099.
- 166 - TISCHFIELDS J., STANBRIDGE E.J., SCHNEIDER E.L.
Mycoplasma contamination of cultured cells : A potential hazard to prenatal biochemical diagnosis.
Am. J. of Human genetics 1975, 27, 89.
- 167 - URIEL J., NECHAUD B. (de), DUPIERS M.
Estrogen binding properties of rat, mouse and man fetospecific serum protein. Demonstration by immuno-autoradiographic methods.
Bio-chem., Bio-phys. Res. Commun. 1972, 46, 1175.
- 168 - VALENTI C.
Endo amnioscopy and fetal biopsy : a new technique.
Am. J. obstet.-gynecol. 1972, 114, 561 - 564.
- 169 - WALBAUM R., DEHAENE P., DUTHOIT F.
Polydactilie familiale avec dysplasie neuro-crânienne.
Ann. Genet., 1976, 10, 39 - 41.
- 170 - WEINBERG A.G., MILUNSKY A., HARROD M.J.
Elevated amniotic alpha feto protein and duodenal atresia.
Lancet 1975, 2, 496.
- 171 - WEISS R.R., MACRI J.N., KENNETH - ELLIGERS P.D., PRINGER G.L., Mc INTIRE K.R., WALDMAN T.A.
Amniotic fluid alpha feto protein as a marker in prenatal diagnosis of neural tube defects.
Obstet. gynecol. 1976, 47, 148 - 151.
- 172 - WEISS R.R., MACRI J.N., ELLIGERS K.W.
Origin of amniotic fluid alpha feto protein in normal and defective pregnancies.
Obstet. gynecol. 1976, 47, 697 - 700.
- 173 - WESTIN B.
Hysteroscopy in early gestation.
Lancet 1954, 2, 872.
- 174 - ZANGEMEISTER W.
Lehrbucle der geburt shilfe.
Leipzig 1927.

